Über die Phytotoxizität von Insektiziden

INAUGURALDISSERTATION

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Basel

1962

von

Fritz Eder

aus Riehen (BS)

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

1 9 6 3

Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin West

Genehmigt von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. M. Geiger-Huber und Dr. H. Zoller.

Basel, den 5. Juni 1962

Prof. Dr. M. Eichler
Dekan

Veröffentlicht in »Phytopathologische Zeitschrift«, Band 47, Heft 2 (1963), Seite 129 bis 174
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

Aus dem Botanischen Institut der Universität Basel
Direktor: Prof. Dr. M. Geiger-Huber

Über die Phytotoxizität von Insektiziden

Von

F. Eder

Mit 26 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — Gärung und Atmung von *Saccharomyces* unter dem Einfluß von Insektiziden. 1. Material und Methode; 2. Einfluß von Phosphorsäureestern; a) Temperatur- und Konzentrationsabhängigkeit, b) Zusammenwirken von Insektiziden mit anderen Stoffen: KCN, PAM, IES, c) Verhalten bei erhöhter Glukosekonzentration und anderen Zukkern; 3. Einfluß von Carbaminsäureestern; 4. Einfluß von chlorierten Kohlenwasserstoffen. — Wachstum von *Aspergillus*-Arten unter dem Einfluß von Diazinon. 1. Material und Methoden; 2. Einfluß auf das Myzelwachstum; 3. Einfluß auf die Lactoflavinbildung. — Wachstum von höheren Pflanzen unter dem Einfluß von Insektiziden. 1. Material und Methoden; 2. Einfluß bei der Behandlung der Samen mit Diazinon von *Pisum sativum* und *Zea Mays* auf Quellung, Keimung und Wachstum; 3. Einfluß von Diazinon und Isolan auf Sproß- und Wurzelwachstum von *Zea Mays* bei der Aufnahme durch die Wurzel; a) Ohne Netzmittel, b) Mit Netzmittel; 4. Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken von *Cucumis sativus* durch verschiedene Insektizide; a) Phosphorsäureester, (1) Zusammenwirken mit IES, (2) Zusammenwirken mit PAM, b) Carbaminsäureester, Zusammenwirken mit IES, c) Chlorierte Kohlenwasserstoffe, Zusammenwirken mit IES. — Diskussion. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

EINLEITUNG

Bei den heutigen hohen Ansprüchen, die allgemein an die Qualität von landwirtschaftlichen Produkten aller Art gestellt werden, wird wohl niemand mehr die Bedeutung der Anwendung von Insektiziden im Pflanzenschutz bestreiten. So haben denn auch in den letzten Jahren die modernen organischen Insektizide eine immer größere Verbreitung erfahren. Bei der vermehrten Anwendung von chemischen Schädlingsbekämpfungsmitteln hat sich auch eine deutliche Verlagerung der Auswahl der Substanzen ergeben; waren es früher hauptsächlich verschiedene Schwefel- und Metall- oder metallorganische Verbindungen, so liegt heute das Schwergewicht auf den rein organischen Substanzen. Den beiden Gruppen der Phosphorsäureester und der chlorierten Kohlen-

wasserstoffe kommt dabei die hauptsächliche Bedeutung zu. Seit kürzerer Zeit werden auch vermehrt Substanzen aus der Gruppe der Carbaminsäureester verwendet.

In bezug auf ihr Verhalten gegenüber der Pflanze können die heute verwendeten Substanzen in drei Gruppen eingeteilt werden:

1. Substanzen, die an der Oberfläche der Pflanzen haften bleiben oder in äußeren Wachsschichten eingelagert werden. Dazu gehören die meisten chlorierten Kohlenwasserstoffe wie DDT, Methoxychlor, Aldrin, Dieldrin, HCH, Lindan, Chlorbenzilat, Chlorpropylat usw.
2. Substanzen mit Tiefenwirkung, d. h. Stoffe, die in oder durch die Epidermis der Pflanze ein- respektive durchdringen, aber von der Pflanze nicht in insektizid wirksamen Mengen verfrachtet werden: hauptsächlich Phosphorsäureester, die nicht typisch systemische Eigenschaften haben, wie Parathion und Diazinon und von den Carbaminsäureestern das Dimetan.
3. Substanzen mit systemischen Eigenschaften, d. h. Substanzen, die durch die oberirdischen Organe oder durch die Wurzel aufgenommen und mit dem Saftstrom in der ganzen Pflanze so verteilt werden, daß sie überall insektizid wirksam sind. Beispiele: viele Phosphorsäureester wie Demeton, Methyldemeton, Phosphamidon, Thiometon, Phosdrin und der Carbaminsäureester Isolan.

Diese Gruppeneinteilung ist nicht streng aufzufassen. So wurde gezeigt, daß auch chlorierte Kohlenwasserstoffe unter bestimmten Bedingungen in einem gewissen Maß von der Pflanze durch die Wurzel aufgenommen und mit dem Saftstrom transportiert werden können. LICHTENSTEIN und SCHULZ (1960) stellen dies für Lindan, Heptachlor und Aldrin und SAN ANTONIO (1959) und BEYE (1961 c) ebenfalls für Lindan fest.

Über das Schicksal der einzelnen Substanzen in der Pflanze ist man heute hauptsächlich für die systemischen Phosphorsäureester weitgehend orientiert. Das Problem wurde jeweils im Zusammenhang mit Rückstandsfragen untersucht.

Die chlorierten Kohlenwasserstoffe sind im allgemeinen sehr beständig, können doch die meisten, mit Ausnahme von Methoxychlor, mit rauchender Schwefelsäure, ohne Schaden zu leiden, behandelt werden (MÜLLER et al. 1957). Diese Stoffe werden in den meisten Fällen von der Pflanze auch nicht abgebaut, sondern höchstens, wenn sie nicht abgewaschen werden, in den äußeren Wachsschichten eingelagert. Ein gewisser Einfluß der pflanzlichen Enzyme auf Substanzen dieser Gruppe konnte auch bei denjenigen beobachtet werden, die von der Pflanze transportiert werden. So fanden CANNON und DECKER (1958) und LICHTENSTEIN und SCHULZ (1960), daß Aldrin und Heptachlor in ihre entsprechenden Oxydationsprodukte Dieldrin und Heptachlorepoxyd umgewandelt werden. SAN ATONIO (1959) fand bei Lindan einige Metaboliten, die aber chemisch nicht identifiziert werden konnten.

Für die Phosphorsäureester mit Tiefenwirkung und die systemischen Substanzen dieser Gruppe wurde mehrfach gezeigt, daß diese Stoffe von den

pflanzlichen Enzymen in relativ kurzer Zeit in zuerst oft insektizid stärker wirksame Metaboliten als das ursprüngliche Insektizid und später in Phosphorsäure und andere unwirksame Spaltprodukte um- und abgebaut werden.

Von den insektizid stärker wirksamen Metaboliten handelt es sich bei den folgenden Beispielen von systemischen Phosphorsäureestern um Oxydationsprodukte, die oft wesentlich besser wasserlöslich sind als die ursprüngliche Substanz.

METCALF et al. (1957), FUKUTO et al. (1957) und BOWMAN (1957) beschreiben für die beiden Isomeren von Demeton und für Thimet wenige Tage nach der Aufnahme durch die Pflanze mehrere Oxydationsprodukte. METCALF et al. (1959) finden für Disyston, daß diese Vorgänge stark von der Temperatur und den Pflanzenarten abhängig sind. Alle diese Autoren verwenden für ihre Untersuchungen P^{32} markierte Insektizidmoleküle. JUCKER (1958) zeigt, daß für Thiometon die Verhältnisse ähnlich liegen; er stellt am dritten Tage nach der Applikation vom ursprünglichen Insektizid nichts mehr fest, dafür können vier Oxydationsprodukte gefunden werden. Die Identifizierung erfolgte auf papierchromatographischem Wege, ohne radioaktiv markierte Moleküle.

Bei den ebenfalls systemischen Phosphorsäureestern Phosdrin und Phosphamidon spielen beim Abbau in der Pflanze Desalkylierungen eine wichtige Rolle. SPENCER und ROBINSON (1960) finden bei mit P^{32} markiertem Phosdrin drei Metaboliten. Diese Substanz weist die kürzeste Abbauzeit in der Pflanze auf, nach zwei Tagen ist keine insektizide Wirkung mehr nachzuweisen (SPENCER und ROBINSON 1960, WINFIELD 1960). ANLIKER et al. (1961 a) verwendeten in ihren Versuchen mit Phosphamidon Moleküle, die an zwei Stellen mit C^{14} markiert waren. Sie finden nach fünf bis acht Tagen drei Abbauprodukte, wobei der Hauptmetabolit, Desäthylphosphamidon, doppelt so insektizid wirksam ist als das Phosphamidon selbst.

MARGOT und GYSIN (1957) finden bei Diazinon, einem Phosphorsäureester mit Tiefenwirkung, keine Hinweise dafür, daß in der Pflanze oxydierte Metaboliten mit verstärkter insektizider Wirkung entstehen. Es wird angenommen, daß der Abbau in der Pflanze über die gleichen Zwischenprodukte abläuft, wie wenn Diazinon der Hydrolyse mit viel Wasser unterworfen wird (vgl. GYSIN und MARGOT 1958). Dagegen kann nach diesen Autoren unter dem Einfluß von wenig Wasser das Diazinon in stärker toxische Stoffe umgewandelt werden. AUGUSTINSSON und JONSSON (1957) finden durch die Behandlung von Diazinon mit Brom stärker wirksame Oxydationsprodukte.

Daß die Moleküle der Insektizide, vor allem der Phosphorsäureester so rasch von der Pflanze um- und abgebaut werden, zeigt, daß diese Substanzen intensiv in den Stoffwechsel der Pflanze einbezogen werden. Daraus ist eine Antwort der Pflanze in ihrem physiologischen Verhalten zu erwarten.

Sind Aufnahmefähigkeit, Abbau der Substanzen und grobe phytotoxische Fragen bei der Einführung der Insektizide in den Pflanzenschutz naturgemäß bereits geklärt, so liegen relativ wenige Arbeiten vor, die sich mit der Reaktion der Pflanze auf diese Fremdstoffe befassen, und die gewisse Anhaltspunkte über den Ort des Eingriffes geben könnten. Resultate von Feldversuchen sind in dieser Hinsicht meistens wenig aufschlußreich.

In der vorliegenden Arbeit stellte ich mir die Aufgabe, durch Versuche im Laboratorium unter genauen Bedingungen und bei der Beobachtung von Teilvorgängen Material zu liefern, das etwas zur Diskussion über die phytotoxischen Effekte beitragen kann.

Es wurde dabei das Hauptgewicht auf einige Substanzen aus der Gruppe der Phosphorsäureester gelegt und ihre Effekte mit denen von Vertretern der Carbaminsäureester und der chlorierten Kohlenwasserstoffe verglichen. Es wurde versucht, die aufgetretenen Effekte mit anderen Stoffen zu beeinflussen oder toxische Wirkungen aufzuheben.

Die Versuche gliedern sich in drei Gruppen:

1. Beeinflussung der Gärung und Atmung von *Saccharomyces cerevisiae*, Zusammenwirken der Insektizide mit KCN, dem bei Warmblütern verwendeten Antidot 2-Pyridin-aldoxim-methjodid (= PAM) und β-Indolylessigsäure (= IES).
2. Beeinflussung von Schimmelpilzkulturen (*Aspergillus*-Arten) auf festem und flüssigem Nährsubstrat und die Bildung von Lactoflavin.
3. Beeinflussung des Wachstums höherer Pflanzen bei Zusammenwirken der Insektizide mit IES und PAM.

Für die Phosphorsäureester und die Carbaminsäureester spielt bei der Vergiftung sowohl von Insekten als auch Warmblütern die Blockierung der für die Reizübertragung in den Nervenbahnen wichtigen Cholinesterase eine wichtige Rolle. Es findet dabei eine Phosphorylierung des Enzyms statt (SPINDLER 1955, CASIDA 1956, PERKOW 1956). Es müssen allerdings noch andere Wirkungen auftreten, denn es gibt Insektizide, die eine hohe Cholinesterasehemmung aufweisen und trotzdem für die Warmblüter relativ wenig toxisch sind, z. B. Diazinon (vgl. PERKOW 1956, GYSIN 1954, GASSER 1953).

Es besteht die Vermutung, daß eine solche Blockierung auch bei den anderen Enzymen stattfindet und bei phytotoxischen Effekten mitwirken könnte. KIERMEIER et al. (1961) stellten eine Hemmung der Peroxydaseaktivität in Milch durch Parathion fest. BOCHAROVA und UKRAINETS (1958) finden die Ascorbinsäureoxydase in Apfelblättern durch mehrere Phosphorsäureester gehemmt. BEYE (1960c) stellt eine Reduktion der Katalaseaktivität bei Kressewurzeln fest. Dieser Effekt kann aber, allerdings etwas schwächer, auch durch chlorierte Kohlenwasserstoffe wie DDT und Chlorbenzilat, die nicht als Cholinesterasehemmer bekannt sind, erzeugt werden. Auch in pflanzenphysiologischen Versuchen finden sich Effekte, die eine direkte Hemmung von bestimmten Enzymen oder Enzymgruppen vermuten lassen. So stellen z. B. WÄCKERS (1954) mit Systox (= Demeton) und ZIEGLER (1957) mit Parathion bei *Helodea* eine Hemmung der CO_2-Assimilation bei gleichzeitiger Steigerung der Atmung fest. BEYE (1961b) findet eine Hemmung der Atmung bei Kressekeimlingen durch Parathion, nicht aber durch Phenkapton (Phosphorsäureester) und DDT und Lindan. Nach dem gleichen Autor haben Lindan, Parathion und der Carbaminsäureester Isolan eine verzögernde Wirkung auf die Chlorophyllbildung von Kressekeimlingen. WIESMANN et al. (1951) und GASSER (1952a, b) stellen

mit Dimetan (Carbaminsäureester) bei *Elodea* eine Hemmung der Assimilation und bei der alkoholischen Gärung von Hefen eine Förderung fest. Diese Substanz hat aber keinen Einfluß auf die Atmung, gemessen an keimenden Bohnensamen. Beye (1960 d) vergleicht die drei Insektizide Isolan, Dimetan und Pyrolan (Carbaminsäureester) in ihrer Wirkung auf die Atmung und Kataläseaktivität von Kressekeimlingen und findet beide Vorgänge durch alle Insektizide gehemmt.

Bei der Beurteilung von Insektizideinflüssen bei Feldversuchen ist große Vorsicht geboten. Getzin und Chapman (1959) zeigen an systemischen Phosphorsäureestern und Carbaminsäureestern, daß die Aufnahme durch die Wurzeln sehr von der Bodenbeschaffenheit abhängig ist. Hacskaylo (1957a) findet bei der Anwendung von Thimet eine Reduktion des Pflanzengewichtes, des Phosphor- und Proteingehaltes. Wallace (1961) stellt bei der Saatgutbehandlung mit Demeton und Methyldemeton eine Reduktion der Keimfähigkeit und nach anfänglicher Schwächung der Pflanzen einen höheren Ertrag fest. Anliker et al. (1961 b) weisen auf wesentliche physiologische Veränderungen bei Feldversuchen mit Phosphamidon hin, genauere Angaben sind noch nicht veröffentlicht. Bei der Behandlung des Saatgutes mit Thimet findet Hacskaylo (1957 b) eine Steigerung des Wachstums der Keimlinge, wenn die Behandlung mit heißem Wasser erfolgt. Hopkins et al. (1958) und Walker (1960) beobachten bei der Verwendung von Thimet und Bayer 19639 und Parathion, Dipterex und Diazinon eine stark reduzierte Keimfähigkeit, wobei allerdings hohe Dosen angewendet werden.

In Laborversuchen untersuchte Beye (1960 a und b, 1961 a und b) den Einfluß von Phosphorsäureestern und chlorierten Kohlenwasserstoffen auf das Wachstum von Kressewurzeln. Dabei zeigen alle untersuchten Stoffe mit Ausnahme von DDT und Phenkapton (Phosphorsäureester) eine konzentrationsabhängige Hemmung des Längenwachstums. Diese Hemmungen sind bis zu einem gewissen Grade reversibel. Für die Carbaminsäureester Isolan, Pyrolan und Dimetan stellt Beye (1960 d) Hemmungen der Keimung und des Wurzelwachstums von Kresse fest, die von der Konzentration abhängig sind. Bei diesen Untersuchungen wurden bewußt relativ hohe Dosen verwendet, wie sie in der Praxis nur in den seltensten Fällen an die Pflanzen gelangen werden. Der Konzentrationsbereich bewegt sich zwischen 10^{-6} und 10^{-2} g/ml der Nährlösung.

An einer größeren Anzahl von Mikroorganismen des Bodens untersucht Swart-Füchtbauer (1955) den Einfluß von Demeton auf das Wachstum. Bei hohen Konzentrationen des Giftstoffes, wie sie in der Praxis im Boden nie vorkommen dürften, werden die Pilze stark gehemmt oder sogar abgetötet.

Obwohl die chlorierten Kohlenwasserstoffe mehrheitlich an den Oberflächen der Pflanze bleiben, zeigen Feldversuche, daß auch diese Substanzen in den Stoffwechsel eingreifen können. Bei der DDT-Behandlung von Reben wurde eine Erhöhung des Proteingehaltes gefunden (Chaboussou et al. 1961). Probst und Everly (1957) finden bei Sojabohnen in dieser Hinsicht keine Unterschiede, dagegen kann der Ölgehalt etwas erhöht ausfallen. Nach Bravo (1956) bewirkt Lindan Hemmungen in der Zellteilung, was zu Polyploidie führen kann.

GÄRUNG UND ATMUNG VON *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* UNTER DEM EINFLUSS VON INSEKTIZIDEN

1. Material und Methode

Als Testorganismus diente *Saccharomyces cerevisiae* Hansen (Bäckerhefe), dessen Gärung und Atmung manometrisch in der Warburgapparatur gemessen wurde. Die Vorteile dieser Methode und ihre Einzelheiten sind bei WARBURG (1926), MUSFELD (1942) und ZÜRCHER (1954) beschrieben.

Es wurden frische und glykogenfreie Hefesuspensionen in 1/15 molar KH_2PO_4 verwendet. In allen Versuchen wurde mit der gleichen Suspensionsdichte von etwa 4 ‰, die photometrisch eingestellt wurde, gearbeitet (vgl. RIEDER 1951).

Das gesamte Reaktionsvolumen je Versuchsgefäß betrug stets 3,0 ml. Alle Angaben von Konzentrationen und Suspensionsdichte beziehen sich auf dieses Volumen, d. h. nach der Zugabe aller in einem Versuch verwendeten Reaktionsteilnehmer. Da die meisten Insektizide in Wasser sehr wenig löslich sind, wurden sie der Suspension in alkoholischer Lösung zugegeben, wobei je nach den Eigenschaften der Substanzen mehr oder weniger trübe Emulsionen entstanden. Die angewendeten Dosierungen lagen oft um den theoretischen Wert der Löslichkeit der Substanzen in Wasser. Da aber noch andere Lösungsteilnehmer vorlagen, muß noch eine Reduktion der Löslichkeit der Insektizide in Rechnung gestellt werden. Die Konzentrationsangaben dieser Stoffe werden in Anführungszeichen gesetzt, zur Unterscheidung von solchen, die vollständig wasserlöslich sind. Es ist klar, daß diese „Konzentrationsangaben" nicht ohne weiteres mit solchen von echten Lösungen verglichen werden können. Sie geben jedoch Anhaltspunkte über die relativen Mengen der gebotenen Stoffe. Bei den Emulsionen stehen der Zelle weniger Moleküle des Insektizids zur Verfügung, als der „Konzentrationsangabe" entsprechen würde. Abgesehen von dem Alkohol, in dem die Insektizide zugegeben wurden, wurden weder Lösungsvermittler noch Netzmittel zugesetzt.

Die Reaktionsgefäße wurden wie folgt beschickt:

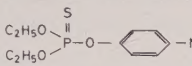
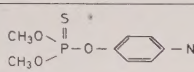
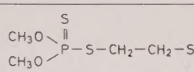
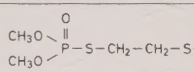
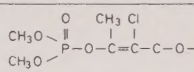
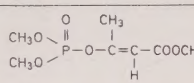
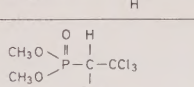
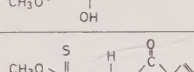
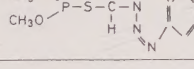
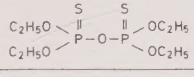
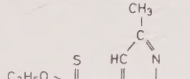
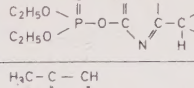
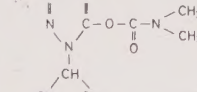
Einsatz:	0,3 ml 8 % KOH (Messung der Atmung)
	0,3 ml 1/15 molar KH_2PO_4 (Messung des Gesamt-CO_2)
Hauptraum:	2,4 ml Hefesuspension
	0,3 ml Zuckerlösung, eventuell einschließlich KCN, PAM oder IES
	0,3 ml Alkohol (Kontrolle) bzw. alkoholische Insektizidlösung (Versuch)

In jedem Versuch wurde eine Kontrolle mitgeführt, die die gleichen Komponenten außer den Insektiziden enthielt. Alle Reaktionsteilnehmer wurden vor Versuchsbeginn direkt in den Hauptraum einpipettiert. Auf das Einkippen der alkoholischen Insektizidlösungen aus den Anhangsgefäßen wurde verzichtet, da dies zusätzliche Gasbildungen bewirkte, die den ganzen weiteren Versuchsablauf störten. Sofort nach dem Einfüllen der Gefäße wurden diese an die Manometer angeschlossen und in das Wasserbad eingehängt. Während 20 Minuten, zur Erlangung des Temperaturausgleichs, wurde mit offenen Manometern geschüttelt (108 Schwingungen je Minute), so daß die erste Ablesung eine Stunde nach dem Beginn der Insektizideinwirkung stattfand. Der Versuch wurde während 2 Stunden 40 Minuten weiterverfolgt, wobei in Intervallen von 20 Minuten abgelesen wurde. Während dieser Zeitspanne wiesen sowohl die Gärungs- als auch die Atmungswerte eine lineare Abhängigkeit in bezug auf die Zeitachse auf, so daß zur Beurteilung der Insektizideinflüsse die mittleren Gärungs- bzw. Atmungsgeschwindigkeiten je Versuch verwendet werden konnten.

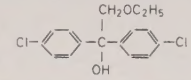
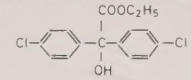
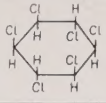
Das Gärungs-CO_2 berechnet sich aus der Differenz zwischen dem insgesamt entstandenen CO_2 und dem aus der Atmung entstandenen, wobei das Atmungs-CO_2 numerisch gleich dem Wert des bei der Atmung verschwundenen O_2 ist. Die Resultate werden in Prozent Förderung (+) bzw. Hemmung (—), bezogen auf die Kontrolle, angegeben.

Am Schluß jedes Versuches wurden die vergifteten Suspensionen mit Methylenblau (1 : 10 000) auf abgestorbene Zellen geprüft, um festzustellen, ob die beobachteten Effekte

Zusammenstellung der verwendeten Insektizide und ihrer wichtigsten Eigenschaften

Name (Common name)	Formel	Mol.-gew.	Toxizität Ratte / Maus DL_{50} mg / kg	Cholinesterase Hemmung I_{50} *)	Wasserlöslichkeit molar	Verhalten auf der Pflanze O = Oberfläche T = Tiefenwirkung S = systemisch
Phosphorsäureester Parathion		291	6	0.03	$7 \cdot 10^{-5}$	T
Methylparathion		263	11	3.1	wenig löslich	T
Thiometon		246	225		$8 \cdot 10^{-4}$	S
Methyldemeton (P=O-Isomere)		230	40		wenig löslich	S
Phosphamidon		395	13 - 20		∞	S
Phosdrin		224	6.5	1.5	∞	S
Dipterex		246	450 (625)		wenig löslich	T
Methylgusathion		317	24	4.4	$1 \cdot 10^{-4}$	T
Sulfotepp		322	5		$7.8 \cdot 10^{-5}$	T
Diazinon		304	220	0.08	$1.3 \cdot 10^{-4}$	T
Carbaminsäureester Isolan		211	17		∞	S
Dimetan		211	150		0.15	T
chlorierte Kohlenwasserstoffe DDT		352	175 - 280		$3 \cdot 10^{-7}$	O

(Fortsetzung)

Name (Common name)	Formel	Mol.-gew.	Toxizität Ratte / Maus DL_{50} mg/kg	Cholinesterase Hemmung I_{50} γ *)	Wasserlöslichkeit molar	Verhalten auf der Pflanze O = Oberfläche T = Tiefenwirkung S = systemisch
Chlorpropylat		310	5000		wenig löslich	O
Chlorbenzilat		324	3000 – 5000		wenig löslich	O
Lindan		288	125		wenig löslich	O

*) nach *Patchet* und *Batchelder* 1960

nicht auf eine Reduktion der Zellenzahl während des Versuches zurückzuführen waren Diese Probe zeigte in keinem Fall am Schluß des Versuches mehr tote Zellen als am Anfang.

Die Gärungswerte zeigten von Versuch zu Versuch teilweise größere Schwankungen der Kontrollen. Es scheint, daß dies mit dem verschiedenen physiologischen Zustand der jeweiligen Hefelieferungen im Zusammenhang stand. Diese Erscheinung wurde auch von ZÜRCHER (1954) beobachtet. Diese Unterschiede wirkten sich zum Teil auch auf die Empfindlichkeit der Insektizideinflüsse aus.

In diesen Testen wurden die folgenden Insektizide geprüft:

1. Phosphorsäureester:
   Phosphamidon, Dipterex, Methylgusathion, Methyldemeton (P = O-Isomere), Sulfotepp, Parathion, Methylparathion, Phosdrin, Thiometon, Diazinon.
2. Carbaminsäureester:
   Isolan, Dimetan.
3. Chlorierte Kohlenwasserstoffe:
   Chlorpropylat, Chlorbenzilat, DDT.

Bei Diazinon wurde das technische Produkt verwendet, während bei den übrigen Insektiziden chemisch reine Substanzen zur Verfügung standen.

2. Einfluß von Phosphorsäureestern

Nach ZÜRCHER (1954) erweist sich eine Glukosekonzentration von 1/18 molar als optimal zur Erreichung der maximalen Atmungs- und hoher Gärungsgeschwindigkeit von *Saccharomyces cerevisiae*. Es wurden mit diesem Substrat die Phosphorsäureester in Abhängigkeit der Dosierung und bei drei Temperaturen (25, 30 und 35 °C) untersucht. Weiter wurde versucht, die aufgetretenen Effekte mit KCN, PAM und IES zu beeinflussen. Geprüft wurden ferner die Erhöhung der Glukosekonzentration und andere Zuckerarten als Substrat. Die

aufgetretenen Effekte wurden mit jenen von Vertretern aus den Gruppen der Carbaminsäureester und der chlorierten Kohlenwasserstoffe bei 1/18 molar Glukose und 30 °C verglichen.

a) Temperatur- und „Konzentrationsabhängigkeit"

Die fünf Substanzen Phosphamidon, Dipterex, Methylgusathion, Methyldemeton (P = O-Isomere) und Sulfotepp zeigten weder auf die Gärung noch auf die Atmung einen wesentlichen Einfluß (Tab. 1). Der „Konzentrationsbereich" erstreckte sich von $2{,}5 \cdot 10^{-5}$ bis $4{,}4 \cdot 10^{-3}$ „molar". Es ist zu betonen, daß unter diesen Substanzen Phosphamidon vollständig wasserlöslich ist.

Abbildung 1 zeigt das Verhalten von Parathion, das nicht systemisch ist, aber eine gute Tiefenwirkung aufweist. Die Gärung zeigte eine starke Förderung durch dieses Insektizid, die in schwachem Maße temperaturabhängig war. Bei 30 ° und 35 °C wurde das Maximum bereits bei $3{,}4 \cdot 10^{-4}$ „molar" erreicht, während bei 25 °C mit der weiteren Erhöhung der „Konzentration" noch eine Steigerung erzielt werden konnte. Die Atmung wurde mit zunehmender „Konzentration" gehemmt, wobei bei $3{,}4 \cdot 10^{-4}$ „molar" bereits 90 % erreicht wurden, die bei weiterer Erhöhung der „Konzentration" nicht überschritten wurden. Die Hemmung der Atmung zeigte keine Temperaturabhängigkeit.

Tabelle 1

Die Wirkung von Phosphamidon, Dipterex, Methylgusathion, Methyldemeton und Sulfotepp
auf die Gärung und Atmung von *Saccharomyces cerevisiae*
Zucker: Glukose 1/18 molar — Temperatur: 30 °C
Hemmung (—) bzw. Förderung (+) in Prozent

		% Hemmung (—) bzw. Förderung (+)	
		Gärung	Atmung
Phosphamidon	$2{,}5 \cdot 10^{-5}$ molar	+ 20	+ 5
	$2{,}5 \cdot 10^{-4}$ molar	+ 9	+ 5
	$2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar	+ 11	+ 7
Dipterex	$4{,}1 \cdot 10^{-5}$ „molar"	+ 5	+ 1
	$4{,}1 \cdot 10^{-4}$ „molar"	— 1	+ 1
	$4{,}1 \cdot 10^{-3}$ „molar"	— 2	— 5
Methylgusathion	$3{,}2 \cdot 10^{-5}$ „molar"	— 1	— 1
	$3{,}2 \cdot 10^{-4}$ „molar"	0	— 7
	$3{,}2 \cdot 10^{-3}$ „molar"	— 6	— 9
Methyldemeton	$4{,}4 \cdot 10^{-5}$ „molar"	+ 13	— 3
	$4{,}4 \cdot 10^{-4}$ „molar"	+ 1	— 1
	$4{,}4 \cdot 10^{-3}$ „molar"	+ 5	— 6
Sulfotepp	$3{,}1 \cdot 10^{-5}$ „molar"	+ 4	— 1
	$3{,}1 \cdot 10^{-4}$ „molar"	— 2	— 1
	$3{,}1 \cdot 10^{-3}$ „molar"	— 3	— 5

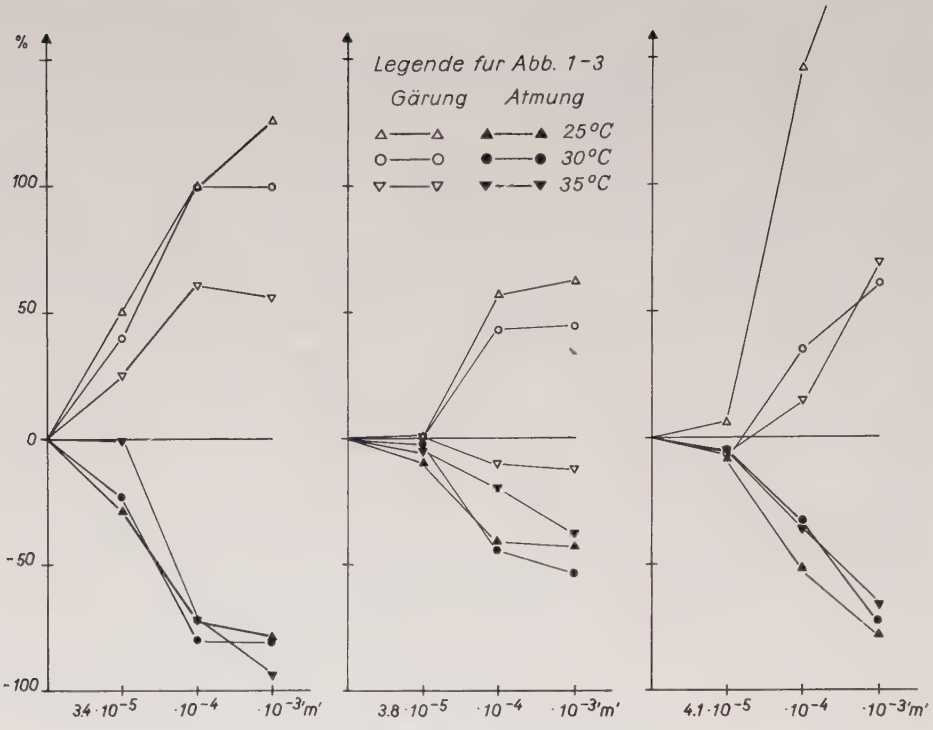


Abb. 1. Parathion Abb. 2. Methylparathion Abb. 3. Thiometon

Abb. 1 bis 3. Einfluß von Parathion, Methylparathion und Thiometon in Abhängigkeit von der „Konzentration" auf die Gärung und Atmung von *Saccharomyces cerevisiae*. Zucker: Glukose 1/18 molar. Hemmung (—) bzw. Förderung (+) in Prozent, bezogen auf die Kontrolle

Methylparathion, das sich chemisch von Parathion nur dadurch unterscheidet, daß die Äthyl- durch Methylgruppen ersetzt sind, hemmt die Cholinesterase aber viel weniger stark als Parathion. Auf den Gaswechsel der Hefe wirkte Methylparathion etwas schwächer. Die Atmung wurde prinzipiell gleich beeinflußt: Hemmung mit zunehmender „Konzentration" und schwacher Temperaturabhängigkeit. Bei der Gärung dagegen machte sich der Einfluß der Temperatur stark bemerkbar. Bei 25 ° und 30 °C trat eine „konzentrationsabhängige" nach den Temperaturen unterschiedene Förderung auf, während bei 35 °C eine schwache Hemmung zu beobachten war. Die Wirkung sowohl auf die Gärung als auch auf die Atmung setzte erst bei einer zehnmal höheren „Konzentration" ein als bei Parathion (Abb. 2).

Bei Thiometon handelt es sich um ein typisch systemisches Insektizid, das chemisch von Demeton, einem ebenfalls systemischen Insektizid abgeleitet ist. Die Wirkung auf die Gärung und Atmung der Hefe zeigte prinzipiell das gleiche Bild wie Parathion, allerdings begann die Wirkung erst bei zehnmal höheren „Konzentrationen", bei $4{,}1 \cdot 10^{-4}$ „molar". Die Gärung zeigte wiederum eine schwache Temperaturabhängigkeit, wogegen die Wirkung auf die Atmung bei allen Temperaturen gleich war (Abb. 3).

Phosdrin, ein ebenfalls systemischer und vollständig wasserlöslicher Phosphorsäureester, zeigte ein völlig anderes Bild. Die Wirkung auf den Gaswechsel der Hefe war wenig ausgeprägt. Es trat erst bei der Konzentration von 4,5 · 10^{-3} molar ein deutlicher Einfluß auf. Die Gärung und die Atmung wurden beide gehemmt, wobei der Effekt bei der Gärung wiederum temperaturabhängig war (Abb. 4). Das Verhalten läßt sich mit Phosphamidon vergleichen, mit welcher Substanz Phosdrin chemisch verwandt ist und in diesem Test keinen Einfluß ausübte.

Eine Substanz, die sich in ihrer Wirkung auf die Gärung und Atmung der Hefe mit Methylparathion vergleichen läßt, ist Diazinon. Dieser Stoff ist wiederum wenig wasserlöslich und weist eine gute Tiefenwirkung auf. Wie in Abbildung 5 ersichtlich ist, war die Beeinflussung der Gärung stark von der Temperatur abhängig. Bei 25 °C trat eine starke „konzentrationsabhängige" Förderung auf, die sich schon bei 3,3 · 10^{-5} „molar" auswirkte und bei 3,3 · 10^{-3} „molar" einen Wert von über 100 % annahm. Bei 30 °C wirkte sich der Einfluß in Form einer Optimumskurve aus, bei 3,3 · 10^{-4} „molar" wurde die

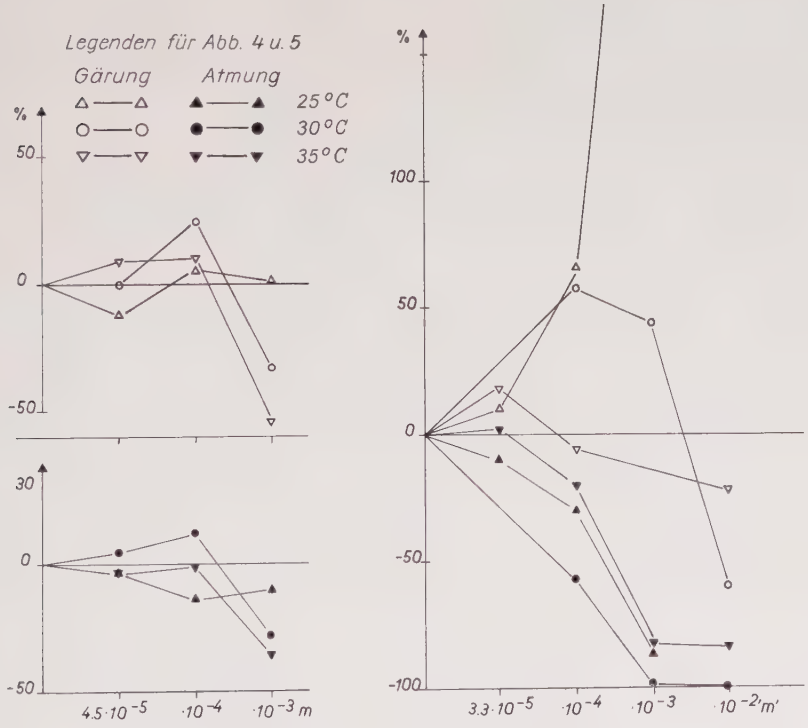


Abb. 4. Phosdrin

Abb. 5. Diazinon

Abb. 4 und 5. Einfluß von Phosdrin und Diazinon in Abhängigkeit von der „Konzentration" auf die Gärung und Atmung von *Saccharomyces cerevisiae*. Zucker: Glukose 1/18 molar. Hemmung (—) bzw. Förderung (+) in Prozent, bezogen auf die Kontrolle

stärkste Förderung erreicht. Bei weiterer Erhöhung der „Konzentration" trat wieder eine Abnahme und sogar eine Hemmung ein. Bei 35 °C ergab sich nach einer schwachen Förderung bei $3{,}3 \cdot 10^{-5}$ „molar" eine Hemmung der Gärung. Bei der Atmung wurde auch bei dieser Substanz eine „konzentrationsabhängige" Hemmung beobachtet, die wenig von der Temperatur beeinflußt wurde, sie erreichte bei $3{,}3 \cdot 10^{-3}$ „molar" ihr Maximum.

b) Zusammenwirken von Insektiziden mit anderen Stoffen

KCN

Es fällt auf, daß einige untersuchte Substanzen formal die gleiche Wirkung auf den Gaswechsel der Hefe ausüben wie KCN, das den bekannten Pasteureffekt hervorruft: Hemmung der Atmung und damit Förderung der Gärung, abhängig von der Konzentration (Abb. 6). Dieses formal gleiche Verhalten der Hefe unter Insektizideinfluß läßt vermuten, die Wirkung der Insektizide könne am gleichen Fermentsystem wie das KCN angreifen. Wenn dies der Fall wäre, müßte sich die durch die Insektizide hervorgerufene Wirkung durch zusätzliche Dosen von KCN verstärken lassen.

Dies wurde für die Substanzen Parathion, Thiometon und Diazinon getestet, wobei die Insektizide in „Konzentrationen" von etwa $4 \cdot 10^{-4}$ „molar" und das KCN bei einer Konzentration von 10^{-4} molar angewendet wurden.

Es wurde jeweils im gleichen Versuch eine Kontrolle ohne Zusätze und je eine mit den einzelnen Komponenten allein mitgeführt. Die Resultate (Tab. 2) zeigen, daß die Insektizide in anderer Weise als das KCN in den Stoffwechsel der Hefe eingreifen. Es traten sowohl leichte Abschwächungen als auch Verstärkungen der Effekte auf, wenn beide Substanzen kombiniert appliziert wurden. Bei der Gärung trat mit Parathion und Thiometon eine leichte Reduktion gegenüber den Werten auf, die durch die einzeln gegebenen Substanzen den stärkeren Effekt hervorriefen, während bei Diazinon eine Erhöhung beobachtet wurde. Für die Atmung wurde bei allen drei Substanzen eine leichte Verstärkung der Hemmung erzielt.

Es darf also angenommen werden, daß die Phosphorsäureesterinsektizide nicht spezifisch die Atmungsfermente hemmen. Es dürfte sich um eine Einwirkung mit mehreren verschiedenen Angriffspunkten handeln.

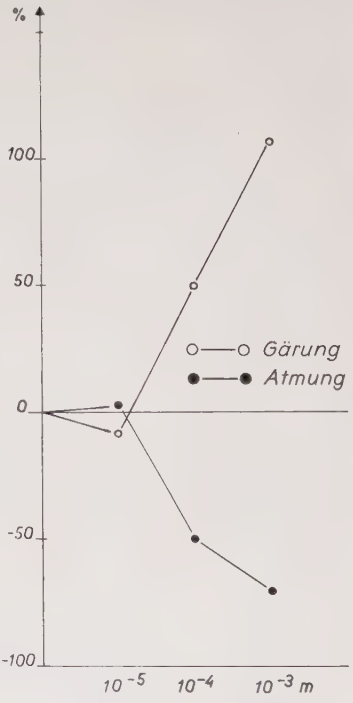


Abb. 6. Einfluß von KCN in Abhängigkeit von der Konzentration auf die Gärung und Atmung von *Saccharomyces cerevisiae*. Zucker: Glukose 1/18 molar. Temperatur: 30 °C. Hemmung (—) bzw. Förderung (+) in Prozent, bezogen auf die Kontrolle

Tabelle 2

Zusammenwirken von Kaliumcyanid und verschiedenen Insektiziden auf die Gärung und Atmung von *Saccharomyces cerevisiae*
Zucker: Glukose 1/18 molar — Temperatur: 30 °C
Hemmung (—) bzw. Förderung (+) in Prozent der Kontrolle

Insektizid		KCN 10^{-4} molar	Insektizid	Insektizid + KCN 10^{-4} molar
Parathion	Gärung	+ 50	+ 91	+ 76
$3{,}4 \cdot 10^{-4}$ „molar"	Atmung	— 50	— 82	— 90
Thiometon	Gärung	+ 50	+ 35	+ 48
$4{,}1 \cdot 10^{-4}$ „molar"	Atmung	— 50	— 38	— 60
Diazinon	Gärung	+ 50	+ 50	+ 72
$3{,}3 \cdot 10^{-4}$ „molar"	Atmung	— 50	— 52	— 72

PAM

Wilson (1955) zeigt, daß die Blockierung der Cholinesterase durch die Phosphorsäureester TEPP und DFP mit 2-Pyridin-aldoxim-methjodid (= PAM) und ähnlichen Substanzen aufgehoben werden kann. Nach Wilson wird das phosphorylierte Enzym durch PAM wieder freigesetzt, wobei das entsprechend phosphorylierte Aldoxim entsteht. Andere Autoren, z. B. Jaques et al. (1957 und 1960), Erdmann (1957) und andere wendeten PAM im Tierversuch an und konnten bei letalen Dosen von Phosphorsäureestern mit PAM-Injektionen die Tiere am Leben erhalten. Es sprechen allerdings nicht alle Insektizide gleich gut auf dieses Antidot an.

Da auch bei phytotoxischen Effekten Fermenthemmungen in Frage kommen, bezog ich PAM als mögliches Antidot ebenfalls in meine Untersuchungen ein.

Die Versuche wurden wie folgt angesetzt. Zwei Stunden vor dem Beginn der manometrischen Messung wurden die Hefesuspensionen mit den Zucker-PAM-Lösungen zusammengebracht, so daß das PAM Gelegenheit hatte, vor der Vergiftung durch die Insektizide von der Zelle aufgenommen zu werden. Die Insektizide wurden wie üblich eine Stunde vor der ersten Ablesung zugegeben. Es wurden die Stoffe Parathion, Thiometon und Diazinon in der „Konzentration" von etwa $4 \cdot 10^{-4}$ „molar" zusammen mit den drei Konzentrationen von PAM (10^{-6}, 10^{-5} und 10^{-4} molar) geprüft.

Für keines der in Frage stehenden Insektizide konnte bei einer der angewendeten PAM-Konzentrationen eine Beeinflussung der Insektizidwirkung festgestellt werden (Tab. 3). Das PAM allein zeigte bei der stärksten Konzentration nur einen schwachen Einfluß. Die Atmung wurde nicht berührt, während die Gärung eine leichte Förderung von 14 % aufwies.

Auch die Resultate dieser Versuche lassen also keine positive Aussage über die Art der Wirkung der Phosphorsäureester auf den Gasaustausch der Hefe zu.

Tabelle 3

Zusammenwirken von PAM und verschiedenen Insektiziden auf die Gärung und Atmung von *Saccharomyces cerevisiae*
Zucker: Glukose 1/18 molar — Temperatur: 30 °C
Hemmung (−) bzw. Förderung (+) in Prozent

Insektizid		PAM 10^{-4} m	Insektizid	Insektizid + PAM 10^{-6} m	10^{-5} m	10^{-4} m
Parathion	Gärung	+ 14	—	—	—	—
$3{,}4 \cdot 10^{-4}$ „molar"	Atmung	+ 4	— 80	— 74	— 65	— 78
Thiometon	Gärung	+ 14	+ 30	+ 27	+ 22	+ 30
$4{,}1 \cdot 10^{-4}$ „molar"	Atmung	+ 4	— 40	— 43	— 45	— 40
Diazinon	Gärung	+ 14	+ 58	+ 54	+ 40	+ 57
$3{,}3 \cdot 10^{-4}$ „molar"	Atmung	+ 4	— 51	— 46	— 52	— 51

Es dürfte sich dabei nicht um eine einfache Enzymblockierung wie im Fall der Cholinesterasehemmung handeln.

IES

Wie später gezeigt wird, kann bei höheren Pflanzen eine Wachstumshemmung durch Phosphorsäureester mit β- Indolylessigsäure (IES) beeinflußt werden. In einem weiteren Test wurde auch diese Substanz als mögliches Antigift bei der Hemmung der Atmung von Hefe angewendet. Es wurde von einer gesättigten IES-Lösung in Wasser ausgegangen und diese in Verdünnungen (Faktor 1/10) den Hefesuspensionen zugesetzt.

In Atmungsversuchen mit Diazinon konnte kein Hinweis gefunden werden, daß die IES in die Hemmvorgänge eingreifen würde (Tab. 4).

c) Verhalten bei erhöhter Glukosekonzentration und anderen Zuckern

Wie ZÜRCHER (1954) zeigt, ist die Atmung im Konzentrationsbereich 1/72 bis 2/9 molar für Glukose maximal. Dagegen ist die Gärung in diesem Bereich konzentrationsabhängig.

Es stellte sich die Frage, ob eine Erhöhung der Glukosekonzentration die Empfindlichkeit der Hefe gegenüber den Insektiziden herabzusetzen vermag.

Tabelle 4

Zusammenwirken von IES und Diazinon auf die Atmung von *Saccharomyces cerevisiae*
Zucker: Glukose 1/18 molar — Diazinon: $3{,}3 \cdot 10^{-3}$ molar — Temperatur: 35 °C
Hemmung (—) bzw. Förderung (+) in Prozent

Diazinon $3{,}3 \cdot 10^{-3}$ „molar"	Diazinon $3{,}3 \cdot 10^{-3}$ „molar" + Verdünnungen einer gesättigten wässerigen IES-Lösung 1/1000	1/100	1/10
74	— 76	— 75	— 64

Tabelle 5

Wirkung von Parathion und Diazinon
auf die Gärung und Atmung von *Saccharomyces cerevisiae*
Zucker: Glukose 5/18 molar — Temperatur: 30 °C und 35 °C
Hemmung (—) bzw. Förderung (+) in Prozent

Temperatur		Parathion, „molar“		Diazinon, „molar“	
		$3{,}4 \cdot 10^{-5}$	$3{,}4 \cdot 10^{-4}$	$3{,}3 \cdot 10^{-5}$	$3{,}3 \cdot 10^{-4}$
30 °C	Gärung	+ 26	+ 112	— 20	+ 35
	Atmung	— 36	— 80	— 10	— 64
35 °C	Gärung	0	+ 60	— 4	+ 18
	Atmung	— 10	— 75	— 1	— 66

Tabelle 6

Wirkung von Parathion und Thiometon
auf die Gärung und Atmung von *Saccharomyces cerevisiae* bei verschiedenen Zuckern
(1/18 molar)
Temperatur: 30 °C — Hemmung (—) bzw. Förderung (+) in Prozent

Zucker		Parathion, „molar“		
		$3{,}4 \cdot 10^{-5}$	$3{,}4 \cdot 10^{-4}$	$3{,}4 \cdot 10^{-3}$
Fruktose	Gärung	— 2	+ 64	+ 84
	Atmung	— 68	— 77	— 83
Raffinose	Gärung	— 24	+ 138	+ 182
	Atmung	— 28	— 73	— 74
		Thiometon, „molar“		
		$4{,}1 \cdot 10^{-5}$	$4{,}1 \cdot 10^{-4}$	
Fruktose	Gärung	+ 33	+ 133	
	Atmung	— 10	— 52	
Mannose	Gärung	+ 152	+ 300	
	Atmung	— 8	— 61	
Raffinose	Gärung	+ 40	+ 400	
	Atmung	— 5	— 49	

Dies wurde für Parathion und Thiometon mit 5/18 molar Glukose getestet. Wie aus Tabelle 5 ersichtlich ist, wurde die Empfindlichkeit der Hefe gegenüber diesen Insektiziden nicht wesentlich verändert.

Tabelle 6 zeigt weiterhin, daß auch die Verwendung von anderen Zuckern als Substrat praktisch keine Veränderung der Insektizideinflüsse zur Folge hatte.

3. Einfluß von Carbaminsäureestern

Aus dieser Gruppe von Verbindungen wurden die Substanzen Isolan und Dimetan getestet. Die Carbaminsäureester sind ebenfalls stark wirksame Cho-

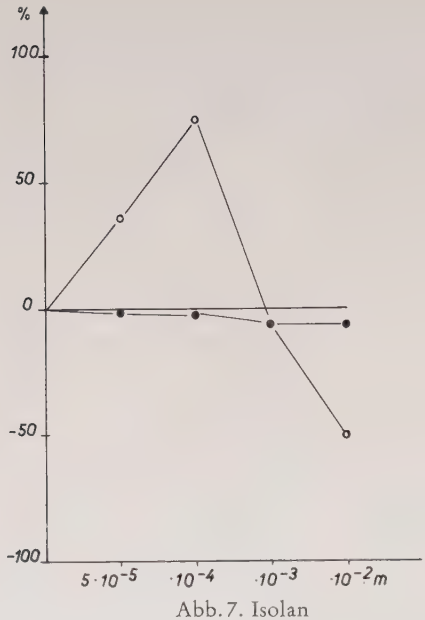


Abb. 7. Isolan

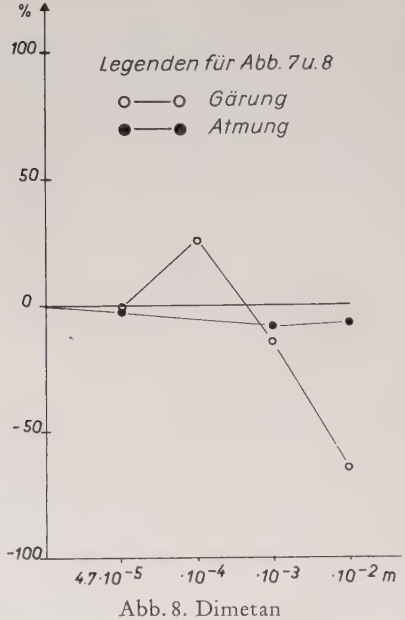


Abb. 8. Dimetan

Abb. 7 und 8. Einfluß von Isolan und Dimetan in Abhängigkeit von der Konzentration auf die Gärung und Atmung von *Saccharomyces cerevisiae*. Zucker: Glukose 1/18 molar. Temperatur: 30 °C. Hemmung (—) bzw. Förderung (+) in Prozent, bezogen auf die Kontrolle

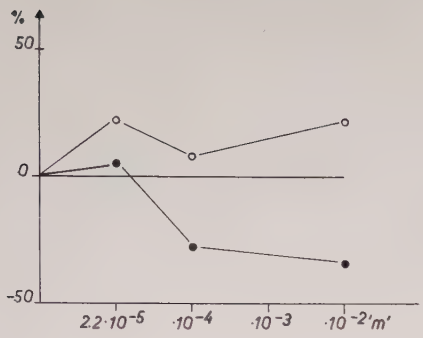
linesterasehemmer. Isolan ist vollständig und Dimetan bis zu 0,15 molar in Wasser löslich.

WIESMANN et al. (1951) und GASSER (1952) weisen darauf hin, daß Dimetan bei der alkoholischen Gärung von Hefe vorübergehende Störungen verursachen kann, was sich in meinen Versuchen bestätigen ließ.

Aus den Abbildungen 7 und 8 ist ersichtlich, daß sowohl bei Isolan als auch Dimetan die Atmung über den ganzen Konzentrationsbereich von $5 \cdot 10^{-5}$ bis $5 \cdot 10^{-2}$molar nicht oder nur wenig beeinflußt wurde. Die Gärung zeigte den Verlauf einer Optimumkurve. Bei Isolan wurde bei niedriger Konzentration ($5 \cdot 10^{-5}$ molar) eine Förderung erzielt, die bei $5 \cdot 10^{-5}$ molar das Optimum erreichte und dann in eine deutliche Hemmung bei $5 \cdot 10^{-2}$ molar umschlug. Für Dimetan war dieser Kurvenverlauf ähnlich, aber nicht so stark ausgeprägt. Die Frage der Temperaturabhängigkeit der Effekte wurde nicht geprüft.

4. Einfluß von chlorierten Kohlenwasserstoffen

Aus dieser Gruppe von Stoffen wurden die drei Substanzen DDT und die beiden nahe verwandten Produkte davon, Chlorpropylat und Chlorbenzilat in ihrer Wirkung auf den Gasaustausch der Hefe untersucht. Im Gegensatz zu den Phosphorsäure- und Carbaminsäureestern gelten die chlorierten Kohlenwasserstoffe nicht als typische Cholinesterasehemmer. Es war deshalb interessant, ihre Wirkung im gleichen Test zu beobachten. Alle drei Substanzen sind nur wenig wasserlöslich.



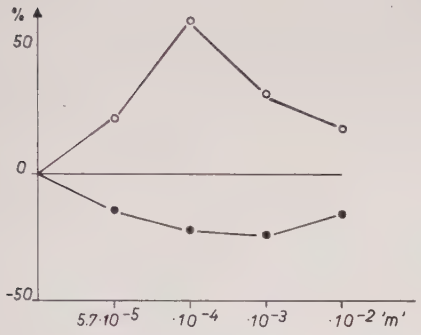


Abb. 9. Chlorpropylat
Abb. 11. DDT

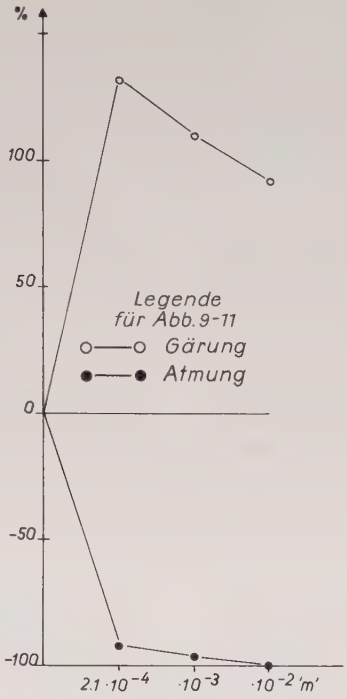


Abb. 10. Chlorbenzilat

Abb. 9 bis 11. Einfluß von Chlorpropylat, Chlorbenzilat und DDT in Abhängigkeit von der „Konzentration" auf die Gärung und Atmung von *Saccharomyces cerevisiae*. Zucker: Glukose 1/18 molar. Temperatur: 30 °C. Hemmung (—) bzw. Förderung (+) in Prozent, bezogen auf die Kontrolle

Chlorpropylat (Abb. 9) zeigt eine wenig ausgeprägte Wirkung. Die Atmung wurde leicht gehemmt, wobei aber von der „Konzentration" von $2{,}2 \cdot 10^{-4}$ bis $2{,}2 \cdot 10^{-2}$ „molar" keine wesentliche Zunahme der Hemmung mehr festgestellt werden konnte. Die Gärung wurde etwas gefördert aber ebenfalls nicht deutlich „konzentrationsabhängig".

Chlorbenzilat wirkte viel stärker sowohl auf die Atmung als auch auf die Gärung. Die Gärung wurde bei $2{,}1 \cdot 10^{-4}$ „molar" über 100 % gefördert, diese Wirkung nahm mit zunehmender „Konzentration" etwas ab. Die Atmung erreichte bei $2{,}1 \cdot 10^{-4}$ „molar" eine Hemmung von 90 %, die mit weiterer Steigerung der „Konzentration" auf 100 % anstieg (Abb. 10).

Der Verlauf der Gärungskurve für DDT zeigte bei $5{,}7 \cdot 10^{-4}$ „molar" ein Optimum der Förderung von etwa 60 %. Die Wirkung auf die Atmung war schwach hemmend und wenig deutlich „konzentrationsabhängig" (Abb. 11).

Die Frage der Temperaturabhängigkeit der Effekte wurde nicht geprüft.

Es fällt auf, daß auch bei diesen Substanzen, die in ihrer chemischen Struktur sehr ähnlich sind, die Wirkungen auf den Gasaustausch wenig Ähnlichkeiten zeigten.

WACHSTUM VON *ASPERGILLUS*-ARTEN UNTER DEM EINFLUSS VON DIAZINON

1. Material und Methoden

Es wurden Reinkulturen von *Aspergillus*-Arten verwendet. Die Stammkulturen wurden auf Malzagar in Kulturröhrchen gezogen und alle drei bis vier Wochen neu überimpft. Bei diesen Kulturbedingungen bildeten die meisten Pilze Sporen, was für die Beimpfung der Hängetropfen- und Flüssigkeitskulturen ausgenützt wurde.

Sämtlich Pilze stammten aus der Reinkultursammlung des Botanischen Instituts der Universität Basel.

In diesen Versuchen wurde Diazinon technisch verwendet. Die Substanz wurde in Alkohol gelöst und in wässerigen Verdünnungen als Emulsion den Kulturmedien zugesetzt. Es wurden vier verschiedene Teste ausgeführt: Hängetropfenkultur, Oxfordtest, Flächenwachstum auf Agarplatten und Flüssigkeitskulturen.

Hängetropfenkultur

Als Nährsubstrat diente Hefewasser, das mit den Sporen der Pilze beimpft wurde. Das Insektizid wurde in alkoholischer Lösung zugesetzt und anschließend wurden die Präparate angefertigt. Die Kontrollen enthielten die gleiche Menge Alkohol. Die Präparate wurden bei den entsprechenden Optimaltemperaturen für das Myzelwachstum (vgl. EMMENEGGER 1954) während zweier Tage im Dunkeln gehalten und dreimal je Tag mikroskopisch kontrolliert.

Oxfordtest

Es wurden Petrischalen von 10 cm Durchmesser verwendet, die mit Malzagar von drei bis vier Millimeter Dicke beschickt waren. Im rechten Winkel zu einem 4 mm breiten Kanal, der die Insektizidemulsion respektive die Kontrolllösung aufnahm, wurden in parallelen Strichen die Testorganismen geimpft. Je Platte wurden vier Pilze geprüft, die das gleiche Temperaturoptimum für das Myzelwachstum aufwiesen und bei dieser Temperatur während zweier Tage im Dunkeln belassen. Die Insektizidemulsionen wurden wie folgt hergestellt: Zu sterilem Wasser wurde die in Alkohol gelöste Substanz zugegeben. Diese wässerige Insektizidemulsion wurde mit einer sterilen Pipette in den Agarkanal der Platten gegeben.

Flächenwachstum

Es wurden Petrischalen von 10 cm Durchmesser mit einer 3 bis 4 mm dicken Schicht von Malzagar beschickt. Der Agar wurde in 150 ml-Portionen in 500 ml Erlenmeyerkolben sterilisiert und langsam abgekühlt. Kurz bevor der Agar fest zu werden begann, wurde 1 ml alkoholische Insektizidlösung respektive 1 ml Alkohol (Kontrolle) zugegeben. Der Kolben wurde kräftig geschüttelt und sofort die Platten gegossen. Die erstarrten Platten wurden genau im Mittelpunkt mit wenig vegetativem Myzel beimpft. Auf diese Weise entstanden kreisrunde Kulturen. Als Maß für das Wachstum unter Insektizideinfluß wurde die Kreisfläche berechnet und zu der Kontrolle in Beziehung gesetzt. Die Platten

wurden nach acht Tagen Kultur im Dunkeln und bei der für das Myzelwachstum optimalen Temperatur ausgewertet.

Flüssigkeitskulturen

Für die Flüssigkeitskulturen wurden 500 ml Fernbachkolben, die mit 150 ml Nährlösung beschickt waren, verwendet. Die Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung (nach EMMENEGGER 1954): 0,2 % NH_4NO_3, 0,1 % KH_2PO_4, 0,025 % $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$, 4 % Rohrzucker (Handelsqualität).

Die in die Kolben abgefüllte Nährlösung wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen je eine halbe Stunde im Dampftopf sterilisiert. Die alkoholische Insektizidlösung wurde nach der Sterilisation und vor dem Impfen den einzelnen Kolben zugesetzt. Die Kontrollkolben wurden mit der entsprechenden Menge Alkohol versetzt. Die Pilze wurden in Form einer Sporensuspension geimpft. Ein Malzagarröhrlein mit der Stammkultur, die reichlich Sporen aufwies, wurde mit 5 ml einer sterilen wässerigen Tween 80 Lösung versetzt und geschüttelt. Von der so erhaltenen Sporensuspension wurde je eine Öse je Kolben geimpft. Die Kulturen wurden während vier Wochen im Dunkeln in Thermostaten wachsen gelassen.

Die pH-Messungen der Nährlösung wurden mit einem Beckmann-pH-Meter Modell G mit Glaselektroden ausgeführt.

Die Bestimmung des Myzeltrockengewichtes erfolgte durch Trocknen des abgenutschten Myzels bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz.

Die Bestimmung des Lactoflavingehaltes der Nährlösung wurde fluorimetrisch ausgeführt. Die Einzelheiten der Methodik sind in „Methods of Vitamin Assay" (1947) und bei EMMENEGGER (1954) beschrieben. Es wurde die Fluoreszenz der verdünnten Nährlösungen mit einem „Lumetron" Colorimeter Modell 402 E (Photovolt Corporation, New York) im Bereich von 0 bis 0,5 γ/ml Lactoflavin gemessen. Als Standard für die Fluoreszenz wurde Na-Fluoreszin verwendet. Um allfällige Fluoreszenzwerte, die nicht vom Lactoflavin stammten, zu eliminieren, wurde die Meßlösung mit $Na_2S_4O_4$ versetzt, womit das Lactoflavin in die nicht fluoreszierende Leukoform umgewandelt wird. Die verbleibende Fluoreszenz wurde vom ersten Wert abgezogen, die Differenz ergab den Wert für das vorhandene Lactoflavin. Da das emulgierte Diazinon die Fluoreszenzmessung störte, wurde die Probe vor der Bestimmung zuerst während 20 Minuten zentrifugiert (3000 U/min.) und anschließend dreimal mit n-Hexan zur vollständigen Entfernung des Diazinons ausgeschüttelt.

Bei den Vergleichskulturen mit dem wasserlöslichen Isolan wurde auf diesen Prozeß verzichtet.

Die Resultate wurden im t-Test miteinander verglichen. Die P-Werte für die Signifikanz werden jeweils angegeben (vgl. FISCHER 1954).

2. Einfluß auf das Myzelwachstum

Hängetropfenkulturen und Oxfordtest

In diesen beiden Testen, die auf eine größere Anzahl von Pilzen angewendet wurden, konnten keine Effekte von Diazinon auf die Keimung der Sporen und das Myzelwachstum beobachtet werden. In den Hängetropfen

herrschte eine „Konzentration" (vgl. S. 134) von $4{,}4 \cdot 10^{-3}$ „molar", also eine „Konzentration", die in den Gaswechselversuchen mit *Saccharomyces* bereits starke Wirkungen hervorrief. Es ist anzunehmen, daß die Sporen zuwenig intensiv mit dem emulgierten Diazinon in Berührung kamen.

Bei den Versuchen mit dem Oxfordtest diffundierte das Insektizid wahrscheinlich nur langsam oder gar nicht in den Agar hinein. Die „Konzentration" des Diazinons im Kanal betrug $3{,}3 \cdot 10^{-3}$ „molar". Auch wenn man das Gift der beimpften Platten bei niedriger Temperatur, 20 °C, diffundieren ließ und die Platten erst nach 14 Stunden auf die für das Wachstum nötige Temperatur brachte, traten keine Effekte auf.

Flächenwachstum

Die Kultur im Hängetropfen und die Oxfordteste können nicht als Beweis dafür angesehen werden, daß die Pilze in ihrem Myzelwachstum durch Diazinon

Tabelle 7

Wirkung von Diazinon
auf das Flächenwachstum von *Aspergillus*-Arten auf festem Nährboden
Die „Konzentration" des Diazinons wird auf das Agarvolumen bezogen
Hemmung (—) bzw. Förderung (+) in Prozent

Pilz	Temperatur °C	Diazinon, „molar" $4{,}4 \cdot 10^{-5}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}4 \cdot 10^{-3}$	$4{,}4 \cdot 10^{-3}$
A. ustus Thom et Church Church	25	0	+ 6	— 67	— 76
A. ustus Thom et Church Abbott	25	0	+ 6	— 58	— 65
A. versicolor (Vuill) Tiraboschi	25	0	+ 15	0	— 14
A. spec.	25	— 21	— 30		— 56
A. amstelodami (Mangin) Thom et Church	25	— 13	— 21	— 93	— 95
A. flavipes Thom et Church Boctigin-Reibura	25	— 17	— 36	— 84	— 97
A. ruber (Bremer) Thom et Raper C.B.S.	25	0	0	— 95	— 95
A. Fischeri Wehmer v. Hell	30	0	— 32	— 69	— 80
A. niger v. Tieghem, A_3	30	0	0	— 43	— 46
A. parasiticus Speare	30	0	0	— 56	— 80
A. Awamori Nakazawa, P 2	30	+ 56	0	— 23	— 86
A. candidus Link Neill	30	— 40	— 78		— 84
A. parasiticus Speare Speare	30	— 36	— 36	— 73	— 75
A. sydowi Thom et Church Church	30	0	+ 7	— 60	— 60
A. nidulans (Eidam) Wint.	30	0	— 64	— 84	— 90
A. niger v. Tieghem, A_7	30	0	— 16	— 68	— 65
A. niger v. Tieghem, A_8	30	0	0	— 53	— 58
A. niger v. Tieghem, Sc	30	— 9	— 34	— 73	— 77
A. giganteus Wehmer Burgeff	30	0	— 83		— 87
A. niger v. Tieghem, A_2	37	0	— 15		— 48
A. flavus Link	37	+ 82	+ 20	— 40	— 44
A. terreus Thom 1960	37	+ 18	— 42	— 61	— 81
A. oryzae (Ahlburg) Cohn 4814	37	— 12	— 26	— 64	— 64

nicht gehemmt werden können. Es ist in beiden Fällen möglich, daß die Pilze in zuwenig intensiven Kontakt mit dem Gift gekommen sind. Deshalb wurde in den folgenden Testen zur Erzielung einer gleichmäßigen Verteilung das Insektizid unmittelbar vor dem Gießen der Platten dem Agar zugesetzt, und diese punktförmig mit wenig vegetativem Myzel beimpft.

Bei dieser Versuchsanordnung zeigte sich eine deutliche und „konzentrationsabhängige" Wirkung auf das Myzelwachstum (Tab. 7).

Die „Konzentrationen" wurden auf das Volumen des Agars bezogen. Sie können selbstverständlich nicht mit den Angaben von wässerigen Emulsionen verglichen werden. Sie zeigen nur die relativen in dieser Versuchsserie applizierten Dosen. In diesem Sinne wurden die vier „Konzentrationen" von Diazinon angewendet: $4{,}4 \cdot 10^{-5}$, $2{,}4 \cdot 10^{-4}$, $2{,}4 \cdot 10^{-3}$, $4{,}4 \cdot 10^{-2}$ „molar" und an 23 Pilzen getestet.

Die meisten Pilze wurden in ihrem Wachstum gehemmt; einige wenige zeigten bei kleinen Dosen eine Förderung, die bei der Erhöhung der Dosen in in eine Hemmung überging. Eine vollständige Abtötung der Organismen trat nicht ein. Zur Sporenbildung ist folgendes zu sagen: Bei sporenbildenden Pilzen wurde in den gehemmten Kulturen die zentrale Zone, in der die Sporen gebildet wurden, im gleichen Verhältnis kleiner ausgebildet, wie die ganze Kultur gehemmt wurde.

3. Einfluß auf die Lactoflavinbildung

Flüssigkeitskulturen

Es wurden drei *Aspergillus*-Arten auf ihr Verhalten gegenüber Diazinon geprüft:

Aspergillus niger van Tieghem, A_3,
Aspergillus niger van Tieghem, A_7,
Aspergillus parasiticus Speare.

Der „Konzentrationsbereich" erstreckte sich von 10^{-6} bis 10^{-3} „molar".

Bei dieser Versuchsanordnung wurde nur die Bildung von Lactoflavin beeinflußt, während das Trockengewicht des Myzels und das pH der Nährlösung nicht oder nur schwach verändert wurden (Tab. 8). Es fällt auf, daß gegenüber den Agarplattentesten das Wachstum des Myzels nicht oder nur schwach, jedenfalls nicht signifikant, beeinflußt wurde. Es ist zu beachten, daß keine echte Lösung in bezug auf das Diazinon vorlag (vgl. S. 134) und daß das spezifische Gewicht von Diazinon > 1 ist. Dazu kommt noch, daß die Standkulturen ausgesprochene Deckenkulturen darstellen. Somit kommt das Pilzmyzel nur sehr wenig intensiv mit dem Insektizid in Berührung. Weiter ist bei solchen lange dauernden Versuchen (vier Wochen) zu beachten, daß Hydrolyseprodukte von Diazinon entstehen, was vor allem bei niedrigen pH-Werten, wie sie hier vorlagen, der Fall ist (vgl. Gysin und Margot 1958).

Zum Vergleich wurde in gleicher Versuchsanordnung Isolan (Carbaminsäureester) auf *Aspergillus parasiticus* Speare einwirken gelassen. Isolan ist aber vollständig wasserlöslich und war somit für den Pilz ohne weiteres erreichbar. Die Konzentrationsangaben gelten also im strengen Sinn. Tabelle 8 zeigt,

daß diese Substanz keinen Einfluß ausübt. Das Trockengewicht wurde leicht, aber nicht signifikant, erhöht und in ungefähr gleichem Maß die Vitaminbildung.

Tabelle 8

Einfluß von Diazinon und Isolan
auf das Myzelwachstum, die Lactoflavinbildung und das pH einiger *Aspergillus*-Arten in Flüssigkeitskultur

	Temperatur °C	0	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	P_K
		Diazinon „molar"					
Myzeltrockengewicht, mg							
A. niger, A_7	25	1378	1437	1425	1429	1436	
A. niger, A_3	30	1563				1343	
A. parasiticus	30	1199				1134	
Lactoflavin in % der Kontrolle							
A. niger, A_7	25	100	102		70	46	> 0,05
A. niger, A_3	30	100				49	< 0,01
A. parasiticus	30	100				70	< 0,01
pH der Nährlösung							
A. niger, A_7	25	2,68	268	2,61	2,77	2,59	
A. niger, A_3	30	2,48				2,50	
A. parasiticus	30	4,42				4,58	
		Isolan molar					
A. parasiticus	30						
Myzeltrockengewicht, mg		1156	1115	1176	1262	1277	
Lactoflavin in % der Kontrolle		100	120	108	108	116	> 0,05
pH		4,87	5,98	5,39	5,16	5,13	

P_K = P-Werte bei Vergleich mit der Kontrolle.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß der Einfluß der geprüften Insektizide auf das Wachstum der *Aspergillus*-Arten gering ist und nur bei Bedingungen, wie sie in der Praxis nicht vorkommen werden, Hemmungen auftreten. Dies stimmt mit den Erfahrungen, wie sie SWART-FÜCHTBAUER (1955) mit Demeton gemacht hat, überein.

WACHSTUM VON HÖHEREN PFLANZEN UNTER DEM EINFLUSS VON INSEKTIZIDEN

1. Material und Methoden

Versuchspflanzen und Insektizide

Es wurde der Einfluß von Insektiziden auf die Keimfähigkeit und das Wachstum höherer Pflanzen untersucht. In diesen Testen wurden folgende

Pflanzen und Insektizide verwendet:

Pisum sativum L. (Keimversuche)
Diazinon (Phosphorsäureester)
Zea Mays L. (Keim- und Wachstumsversuche)
Diazinon
Isolan (Carbaminsäureester)
Cucumis sativus L. (Wachstum von Hypokotylstücken)
Diazinon (Phosphorsäureester)
Thiometon (Phosphorsäureester)
Methylgusathion (Phosphorsäureester)
Sulfotepp (Phosphorsäureester)
Phosphamidon (Phosphorsäureester)
Isolan (Carbaminsäureester)
Dimetan (Carbaminsäureester)
DDT (chlorierte Kohlenwasserstoffe)
Lindan (chlorierte Kohlenwasserstoffe)
Chlorpropylat (chlorierte Kohlenwasserstoffe)
Chlorbenzilat (chlorierte Kohlenwasserstoffe)

Bei Diazinon wurde das technische Produkt verwendet, während bei den übrigen Insektiziden chemisch reine Substanzen zur Verfügung standen.

Aufzucht von Pisum sativum und Zea Mays

Die Samen wurden in stehendem Leitungswasser, dem eine bestimmte Menge Insektizid zugegeben worden war, während 24 Stunden bei Zimmertemperatur gequollen. Das Insektizid wurde in alkoholischer Lösung zugegeben; die Kontrolle wurde mit der entsprechenden Menge Alkohol versetzt. Als Quellgefäß wurde eine 500 ml Saugflasche verwendet, die mit 100 ml Insektizidemulsion, respektive Wasser mit Alkoholzusatz, beschickt war. Die Flasche war wie eine Gaswaschflasche eingerichtet, so daß mit der Wasserstrahlpumpe kontinuierlich ein Luftstrom hindurchgezogen werden konnte. Damit war die notwendige Sauerstoffzufuhr garantiert, ohne daß die Quellemulsion gewechselt werden mußte.

Die gequollenen Samen wurden auf eine feuchte Kammer übertragen, wo sie auskeimten. Die feuchte Kammer bestand aus einem Akkumulatorenglas von etwa 35 cm Höhe, 40 cm Breite und 20 cm Tiefe. Es wurde mit einer 5 cm hohen Wasserschicht beschickt und die Wände mit Filterpapier ausgeschlagen. Auf eine in ihrer Höhe verstellbaren Plexiglasplatte mit konisch gebohrten Löchern wurden die Samen respektive Karyopsen so gelegt, daß die Wurzeln nach unten wachsen und ins Wasser tauchen konnten. Die feuchte Kammer wurde in einen Thermostaten von 27 °C und Dunkelheit gebracht. Nach sechs bis acht Tagen wurde die Sproß- und Wurzellänge ausgewertet.

Wenn die Aufnahme des Insektizids durch die Wurzel geprüft wurde, ging ich zunächst gleich vor, wie oben beschrieben, wobei das Quellwasser keine Insektizide enthielt. Nach dem Auskeimen wurden die Keimlinge von gleicher Sproßlänge auf eine mit Löchern versehene Plexiglasplatte „gesetzt". Die Platte paßte auf Schalen von 8 · 16 cm und 3,5 cm Höhe, die mit Nährlösung

mit dem alkoholischen Insektizidzusatz, respektive Alkoholzusatz, versehen war. Das Wachstum erfolgte in einer Dunkelkammer von 25 °C und 70 % Luftfeuchtigkeit.

Zur Trockengewichtsbestimmung wurden die Pflanzenteile bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz belassen.

Aufzucht von Cucumis sativus

Bei der Aufzucht dieser Pflanzen wurde gleich vorgegangen wie bei HUBER (1951) und BOLLAG (1960). Die Samen wurden während einer Stunde, wie bereits beschrieben, bei Zimmertemperatur gequollen. Anschließend wurden sie auf feuchtes Filterpapier in Molischschalen ausgelegt und während eineinhalb Tagen im Dunkeln und bei 25 °C auskeimen gelassen. Die Keimpflanzen wiesen nun Wurzeln von 1 bis 2 cm Länge auf. Diese wurden in den Spalt von Glashaltern gesteckt, von denen je fünf in eine Glasschale von 8 · 16 cm und 3,5 cm Höhe auf zwei Glasstäbe von etwa 5 mm Dicke gelegt wurden (HUBER 1951, Fig. 3). Der Raum zwischen dem Boden der Schale und den Glashaltern wurde mit Knop'scher Nährlösung aufgefüllt.

Die Pflanzen wurden in Dunkelkammern von 25 °C und 70 % Luftfeuchtigkeit wachsen gelassen. Nach zwei Tagen erreichte die Mehrheit eine Länge von 7 bis 9 cm und war bereit für die Wachstumsteste.

Für Lichtversuche standen in den gleichen Kammern Fluoreszenzröhren zur Verfügung.

Versuchsanordnung

Für die Wachstumsteste wurden von den zwei Tage alten Hypokotylen die Wachstumszone und die Kotyledonen verwendet. Die Hypokotyle wurden 3,5 cm unterhalb der Basis der Kotyledonen mit einem Rasiermesser abgeschnitten. Es wurden jeweils nur die Hypokotyle von 7 bis 9 cm Länge verwendet.

Je zehn dieser Hypokotylstücke wurden in eine Deckeldose gelegt, die 50 ml der Versuchslösung enthielt. Diese Manipulationen wurden bei rotem Licht in der Dunkelkammer ausgeführt.

Die verschiedenen Bestandteile der Versuchslösung wurden in einer auf ein Fünftel verdünnten Knopnährlösung zusammengestellt. Die Insektizide wurden der wässerigen Lösung, die alle übrigen Komponenten bereits enthielt, in alkoholischer Lösung, 1 ml je 100 ml Versuchslösung, zugesetzt und während einer Minute mit einem elektrischen Propellerrührer intensiv gemischt.

Die Lösung der β-Indolylessigsäure in Wasser wurde für jeden Versuch neu hergestellt.

Die Hypokotylstücke blieben während 24 Stunden bei Dunkelheit unter dem Einfluß der Wirkstoffe. Der Längenzuwachs wurde auf 0,5 mm genau gemessen, und die Resultate wurden in Prozent der Kontrollen angegeben.

Die Unterschiede wurden mit dem t-Test überprüft (FISHER 1954). Die P-Werte für die Signifikanz werden jeweils angegeben. In den graphischen Darstellungen sind die Werte, die unter sich nicht signifikant verschieden sind, zusammengefaßt. Der Grad der Signifikanz (P-Werte) gegenüber den Vergleichswerten kann in den Abbildungen ebenfalls abgelesen werden.

2. Einfluß der Diazinon-Behandlung der Samen von *Pisum sativum* und *Zea Mays* auf Quellung, Keimung und Wachstum

Es wurden je 50 Samen in Leitungswasser mit Alkoholzusatz (Kontrolle) und in wässerigen Emulsionen von Diazinon der beiden „Konzentrationen" (vgl. S. 134) von $6{,}6 \cdot 10^{-4}$ und $6{,}6 \cdot 10^{-3}$ „molar" gequollen.

Während der Quellung fiel auf, daß bei der stärkeren „Diazinonkonzentration" das milchige Aussehen des Quellmediums, hervorgerufen durch das

Tabelle 9

Pisum sativum:

Behandlung der Samen mit Diazinon während der Quellung, acht Tage Wachstum in der feuchten Kammer bei 27 °C und Dunkelheit

„Konzentration" im Quellmedium molar	Kontrolle	$6{,}6 \cdot 10^{-4}$	P_K	P_V	$6{,}6 \cdot 10^{-3}$	P_K
Sproßlänge, % der Kontrolle	100	62	< 0,001	> 0,05	54	< 0,001
Wurzellänge, % der Kontrolle	100	107	> 0,05		110	> 0,05
Ausgekeimt, % der Kontrolle	100	80			80	
aufgenommenes Quellwasser je 50 g Samen in Gramm	19,39	18,93			18,94	
pH des Quellmediums nach 24 Stunden	7,13	7,05			7,05	

P_K = P-Wert bei Vergleich mit der Kontrolle.
P_V = P-Wert bei Vergleich zwischen beiden „Konzentrationen".

Tabelle 10

Pisum sativum:

Behandlung der Samen während der Quellung, 17 Stunden PAM 10^{-4} molar, anschließend 7 Stunden Diazinon $6{,}6 \cdot 10^{-3}$ „molar".
Sechs Tage Wachstum in der feuchten Kammer bei 27 °C und Dunkelheit

„Konzentration" im Quellmedium „molar"	Kontrolle	Diazinon $6{,}6 \cdot 10^{-3}$	P_K	P_V	PAM 10^{-4} molar + Diazinon $6{,}6 \cdot 10^{-3}$ „molar"	P_K
Sproßlänge, % der Kontrolle	100	48	< 0,01	> 0,05	40	< 0,01
Wurzellänge, % der Kontrolle	100	146	< 0,01	> 0,05	120	> 0,05
aufgenommenes Quellwasser je 50 Samen in Gramm	18,81	19,68			19,02	
pH des Quellmediums nach 24 Stunden	6,90	6,90			7,00	

P_K = P-Wert bei Vergleich mit der Kontrolle.
P_V = P-Wert bei Vergleich zwischen den beiden Behandlungen.

emulgierte Insektizid, schon nach zwei bis drei Stunden verschwand und die Lösung klar wurde. Weiter war zu beobachten, daß die Schaumbildung, hervorgerufen durch die gelösten Eiweißstoffe der Erbsen, in den Insektizidmedien unterblieb.

Die Resultate für *Pisum sativum* sind in Tabelle 9 zusammengestellt.

Die Wasseraufnahme der behandelten Erbsen während der Quellung wurde nicht verändert, ebenso zeigte das pH des Quellmediums keine Unterschiede.

Nach acht Tagen Wachstum in der feuchten Kammer zeigte das Sproßwachstum eine starke Hemmung, während das Wurzelwachstum eine leichte nichtsignifikante Förderung aufwies. Bei kürzerer Wachstumszeit zeigten sich die Effekte auf die Wurzel deutlicher (Tab. 10).

Es interessierte, ob diese Wirkungen sich durch PAM beeinflussen lassen (vgl. S. 141). Während der ersten 17 Stunden der Quellung wurde einer von drei Proben Erbsen PAM in der Konzentration von 10^{-4} molar zugesetzt, die beiden anderen erhielten Leitungswasser. Nach dieser Zeit wurden alle Quellmedien gewechselt. Die Kontrollerbsen wurden mit frischem Wasser, die beiden anderen Proben mit Diazinonemulsionen von $6{,}6 \cdot 10^{-3}$ „molar" versetzt. Unter diesen Bedingungen wurde die Quellung während weiterer sieben Stunden fortgesetzt.

Die Resultate gehen aus Tabelle 10 hervor. Das pH des Quellmediums und die Wasseraufnahme der Samen wurden wiederum nicht verändert. Die Keimlinge wurden während sechs Tage in der feuchten Kammer belassen; die bereits besprochenen Effekte des Insektizids konnten durch PAM nicht beeinflußt werden.

Die Quellung, Keimung und das Wachstum von *Zea Mays* konnte durch die Saatgutbehandlung mit den beiden „Konzentrationen" von $6{,}6 \cdot 10^{-3}$ und $6{,}6 \cdot 10^{-4}$ „molar" Diazinon im Quellwasser nicht beeinflußt werden (Tabelle 11).

Tabelle 11

Zea Mays:

Behandlung der Karyopsen mit Diazinon während der Quellung, sechs Tage Wachstum in der feuchten Kammer bei 27 °C und Dunkelheit

„Konzentration" im Quellmedium „molar"	Kontrolle	$6{,}6 \cdot 10^{-4}$	P_K	$6{,}6 \cdot 10^{-3}$	P_K
Sproßlänge, % der Kontrolle	100	86	> 0,05	106	> 0,05
Wurzellänge, % der Kontrolle	100	123	> 0,05	108	> 0,05
Ausgekeimt, % der Kontrolle	100	108		100	
aufgenommenes Quellwasser je 50 Karyopsen in Gramm	24,98	22,85		22,97	
pH des Quellmediums nach 24 Stunden	6,82	7,98		7.00	

P_K = P-Wert bei Vergleich mit der Kontrolle.

Es scheint, daß der Samen der Erbse für die Aufnahme des lipophilen Insektizids bessere Bedingungen bietet.

3. Einfluß von Diazinon und Isolan auf Sproß- und Wurzelwachstum von *Zea Mays* bei der Aufnahme durch die Wurzel

a) Ohne Netzmittel

Da offenbar Diazinon bei der Applikation während der Quellung von den Maiskaryopsen nicht aufgenommen wurde, wurden weitere Versuche angeschlossen, bei denen den Keimlingen mit ausgebildeter Wurzel das Insektizid zur Aufnahme durch die Wurzel geboten wurde. Die Dauer der Einwirkung des Insektizids ist identisch mit der Dauer des Versuchs. Es wurden die Länge der Wurzel und die totale Länge des Sprosses gemessen.

Bei dieser Versuchsanordnung gelangen die Giftstoffe in sehr intensiven Kontakt mit der Pflanze, wie es bei Bedingungen in der Praxis nie der Fall sein dürfte. Zu den „Konzentrationsangaben" ist folgendes zu sagen: Bei den starken „Konzentrationen" stellte man am Schluß des Versuches einen schmierigen Belag auf dem Boden der Kulturschalen fest. Das bedeutet also, daß die Emulsionen zuwenig stabil waren und somit die Angaben nur ein sehr grobes Maß für die gebotenen Stoffmengen bilden. Dazu ist noch zu berücksichtigen,

Tabelle 12

Zea Mays:

Beeinflussung des Sproß- und Wurzelwachstums durch Diazinon bei der Einwirkung des Insektizids auf die Wurzel der Keimlinge bei 25 °C.
Werte in Prozent der Kontrolle

		Sproß		Wurzel		Karyopse	
			P_K		P_K		P_K
$3 \cdot 10^{-4}$ „molar" Dauer der Einwirkung 3 Tage Dunkelheit	Länge	81	~ 0,4	76	~ 0,5		
$1{,}3 \cdot 10^{-3}$ „molar" Dauer der Einwirkung 3 Tage Dunkelheit	Länge	65	< 0,01	76	> 0,05		
	Frischgewicht	56	< 0,01	85	~ 0,5	92	~ 0,9
	Trockengewicht	76	< 0,02	82	~ 0,3	89	~ 0,6
$1{,}3 \cdot 10^{-3}$ „molar" Dauer der Einwirkung 3 Tage 12 Stunden Licht je Tag	Länge	58	< 0,05	80	~ 0,2		
$1{,}3 \cdot 10^{-3}$ „molar" Dauer der Einwirkung 11 Tage Dunkelheit	Länge	73	< 0,01	54	< 0,01		

P_K = P-Wert bei Vergleich mit der Kontrolle.

daß auch in diesen Emulsionen mit Hydrolyseprodukten gerechnet werden muß (vgl. GYSIN und MARGOT 1958).

Bei Isolan lagen echte Lösungen vor, so daß in diesem Fall die wirksame Konzentration des Giftes sicher viel höher lag als bei Diazinon bei der gleichen Angabe der Molarität.

In Tabelle 12 sind die Resultate für die Versuche mit Diazinon zusammengestellt. Bei der „Konzentration" von $3 \cdot 10^{-4}$ „molar" konnte nach drei Tagen bei etiolierten Pflanzen keine signifikante Beeinflussung weder des Sprosses noch der Wurzel festgestellt werden. Bei der Erhöhung der „Konzentration" auf $1{,}3 \cdot 10^{-3}$ „molar" und ebenfalls bei dreitägiger Einwirkung des Insektizids wurden starke Einflüsse beobachtet. Das Sproßwachstum wurde gegenüber dem Wurzelwachstum deutlich gehemmt. Diese Wirkung trat am deutlichsten beim Frischgewicht auf. Die Länge wurde ebenfalls sehr bedeutend gehemmt, während beim Trockengewicht die Wirkung etwas abgeschwächt erscheint. Der Einfluß auf das Wurzelwachstum war nicht signifikant, obwohl eine leichte Abnahme der Werte zu beobachten war.

Der Einfluß des Lichtes änderte an diesen Befunden nichts. Die Pflanzen wurden bei den sonst gleichen Bedingungen bei 12 Stunden Licht je Tag dem Insektizid ausgesetzt. Eine augenfällige Beeinflussung des entstandenen Blattgrüns konnte nicht beobachtet werden.

Bei der Erhöhung der Dauer der Einwirkung des Diazinons von drei auf elf Tage zeigte sich auch eine Hemmung des Wurzelwachstums, die noch stärker war als diejenige des Sprosses.

Es zeigte sich also in diesen Versuchen keine strenge Selektivität der Wirkung des Diazinons auf die einzelnen Organe der Pflanze. Es kann aber festgestellt werden, daß das Sproßwachstum empfindlicher beeinflußt wird als das Wurzelwachstum. Eine ähnliche Beobachtung wurde auch bei der Saatgutbehandlung der Erbsen gemacht, wobei sich allerdings die Wirkung auf die Wurzel in einer Förderung des Wachstums ausdrückte.

Diese Beobachtungen stehen aber in einem gewissen Widerspruch zu den Erfahrungen, die BEYE (1961 a) an Kressepflanzen gemacht hat. Er stellt fest, daß die Wurzel stärker gehemmt wird als der Sproß, und zwar bei der Applikation verschiedener Insektizide, sowohl in den Formulierungen des Handels als auch bei reinen Substanzen.

Über einen allfälligen Transport des Diazinons läßt sich aus diesen Versuchen nichts aussagen. Die Erfahrungen im Pflanzenschutz zeigen aber, daß dieses Insektizid keine systemischen Eigenschaften aufweist.

Isolan (Carbaminsäureester) zeigte bei einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-3}$ molar bei einer Einwirkungsdauer von vier Tagen weder auf den Sproß noch auf die Wurzel einen Einfluß. Auch diese Beobachtung steht im Widerspruch zu den Erfahrungen von BEYE (1960 c). Er stellt für diese Substanz eine starke Beeinträchtigung des Wurzelwachstums bei der Kresse fest.

b) Mit Netzmittel

An Mais und *Cucumis* wurde die Beeinflussung des Wachstums durch Diazinon bei der Aufnahme des Insektizids durch die Wurzeln bei Netzmittel-

zusätzen geprüft. In allen übrigen Versuchen wurden immer nur wässerige Emulsionen ohne Lösungsvermittler, außer einer kleinen Menge Alkohol, verwendet. Bei Vergleichen mit formulierten Substanzen des Handels ist aber daran zu denken, daß die Netzmittelzusätze nicht nur für die Verteilung eines Spritzbelages auf den Blättern eine Rolle spielen, sondern auch die Aufnahme der Substanzen durch die Pflanzen und damit ihre toxische Wirkung sowohl im positiven wie im negativen Sinne beeinflussen können. Dies soll an zwei Beispielen gezeigt werden.

Der Knop'schen Nährlösung für die Aufzucht von *Cucumis*-Keimlingen wurden zwei verschiedene Kombinationen von Tween 20, Tween 80 und Span (Atlas Powder Company) bei gleicher Diazinon-„Konzentration" zugesetzt. Die Resultate wurden auf die Kontrolle bezogen, die die gleichen Netzmittelkombinationen enthielten. Die „Konzentration" des Diazinons betrug 6,6 · 10^{-4} „molar"; die Netzmittelmischungen, die in der Nährlösung 1 : 100 verdünnt waren, lauteten:

1. Tween 20 : Span = 1 : 3,
2. Tween 20 : Tween 80 = 1 : 3.

Abbildung 12 zeigt, daß bei beiden Kombinationen das Wurzelwachstum gegenüber den entsprechenden Kontrollen signifikant gehemmt wurde. Der Unterschied zwischen den beiden Versuchen war nicht signifikant. Dagegen wurde das Sproßwachstum bei Kombination 1 um die Hälfte reduziert und bei Kombination 2 nicht beeinflußt.

An Mais wurden die Einflüsse von Diazinon (10^{-3} „molar") bei Applikation in wässeriger Lösung mit und ohne Zusatz von Tween 80 (1 : 100 verdünnt) miteinander verglichen. Die Resultate wurden auf die entsprechenden Kontrollen ohne respektive mit Tween 80 bezogen. Es ergab einen ähnlichen Effekt wie in den bereits beschriebenen Testen. Die Wurzel wurde unter beiden Bedingungen signifikant gehemmt; der Sproß wurde jedoch bei der Applikation ohne Tween 80 um etwa die Hälfte und mit diesem Zusatz nicht gehemmt (Abbildung 13).

Beye (1961b) stellt bei Vergleichen an Kressewurzeln mit reinen Wirkstoffen und formulierten Produkten des Handels keine Unterschiede in der Wirkung fest.

4. Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken von *Cucumis sativus* durch verschiedene Insektizide

Die Versuche mit Erbse und Mais zeigten, daß das Sproßwachstum empfindlicher auf die Einwirkung von Diazinon reagiert als die Wurzel. Es wurden deshalb an Hypokotylen von *Cucumis*, einem Objekt, das sich für Wachstumsversuche gut eignet, genauere Untersuchungen mit weiteren Insektiziden vorgenommen.

Es wurde versucht, die aufgetretenen Hemmungen mit synthetischem Wuchsstoff, β-Indolylessigsäure (= IES), zu beeinflussen. Um möglichst klare Bedingungen zu erhalten, wurde eine IES-Konzentration gewählt, die allein keinen oder nur einen schwachen Einfluß auf das Wachstum ausübte. Mit einer

Konzentration von IES von $5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar (= 0,1 γ/ml) konnten die Hemmwirkungen der Insektizide zum Teil beeinflußt oder sogar ganz aufgehoben werden, wobei die IES allein keine Förderung auf das Wachstum ausübte. Die

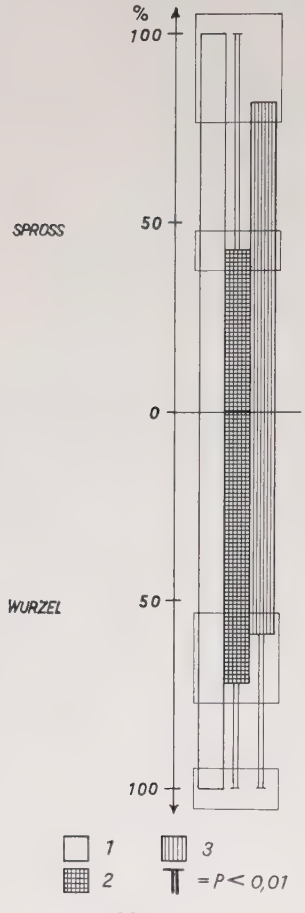


Abb. 12

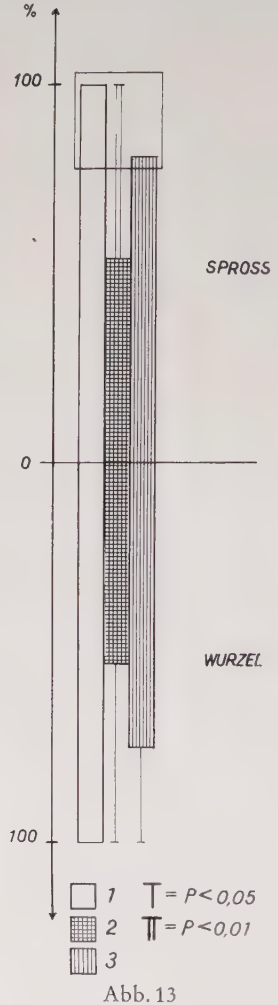


Abb. 13

Abb. 12. *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Sproß- und Wurzelwachstums durch Diazinon bei Zusatz verschiedener Netzmittelkombinationen. Aufnahme durch die Wurzel aus der Nährlösung. Diazinon: $6{,}6 \cdot 10^{-4}$ „molar". Kulturdauer: Vier Tage bei Dunkelheit. Temperatur: 25 °C. Verdünnung der Netzmittel: 1 : 100. Werte in Prozent, bezogen auf die Kontrollen mit den entsprechenden Netzmittelkombinationen.

$$1 = \text{Kontrollen, } 100\,\% \text{ gesetzt;} \quad 2 = \frac{\text{Tween 20}}{\text{Span}} = \frac{1}{3}; \quad 3 = \frac{\text{Tween 20}}{\text{Tween 80}} = \frac{1}{3}$$

Abb. 13. *Zea Mays*: Beeinflussung des Sproß- und Wurzelwachstums durch Diazinon bei Zusatz von Tween 80. Aufnahme durch die Wurzel aus der Nährlösung. Diazinon: 10^{-3} „molar". Kulturdauer: Zehn Tage bei Dunkelheit. Temperatur: 25 °C. Verdünnung des Tween 80: 1 : 100. Werte in Prozent, bezogen auf die entsprechenden Kontrollen ohne bzw. mit Tween 80. 1 = Kontrollen, 100 % gesetzt; 2 = ohne Tween 80; 3 = mit Tween 80.

Insektizide und die IES wurden gleichzeitig auf die Hypokotylstücke einwirken gelassen. In diesen Testen wurde ebenfalls geprüft, ob PAM als entgiftende Substanz in Frage kommt, was nicht gezeigt werden konnte.

Wenn nichts besonderes bemerkt wird, handelt es sich um Hypokotylstücke von Keimlingen die im Dunkeln aufgezogen worden waren.

A. Phosphorsäureester

Aus der Gruppe der Phosphorsäureester wurden mit diesem Test Diazinon, Thiometon, Methylgusathion, Sulfotepp und Phosphamidon geprüft. Der „Konzentrationsbereich" erstreckte sich von $2 \cdot 10^{-7}$ bis $2 \cdot 10^{-4}$ „molar". Diazinon, Thiometon und Methylgusathion hemmten das Wachstum, während Sulfotepp und Phosphamidon keine Wirkung zeigten.

1. Zusammenwirken mit IES

Diazinon hemmte das Längenwachstum im „Konzentrationsbereich" von $6{,}6 \cdot 10^{-5}$ „molar" bis $6{,}6 \cdot 10^{-4}$ „molar", höhere „Konzentrationen" bewirkten das Absterben der Hypokotyle. Die Hemmung war in diesem relativ engen Bereich „konzentrationsabhängig". Die Temperaturabhängigkeit war wenig

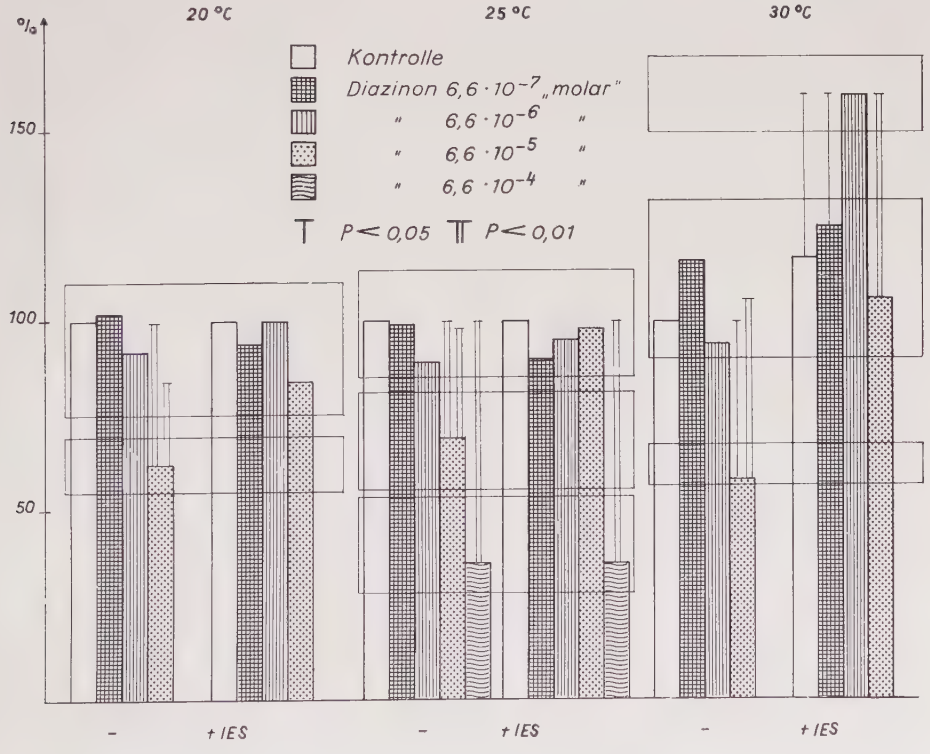


Abb. 14. *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken durch Diazinon. Zusammenwirken mit IES $5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar. Werte in Prozent der Kontrolle. Aufzucht im Dunkeln

ausgeprägt; zwischen 20 und 25 °C zeigten sich keine Unterschiede. Bei 30 ° machten sich die Effekte stärker bemerkbar, so wirkte die „Konzentration" von 6,6 · 10^{-4} „molar" bei dieser Temperatur bereits letal.

Bei 20 und 25 °C vermochte der IES-Zusatz die durch das Diazinon bewirkte Hemmung bei 6,6 · 10^{-5} „molar" aufzuheben, während die nichtgehemmten Hypokotylstücke bei den schwächeren „Konzentrationen" unbeeinflußt blieben. Die Organismen bei 6,6 · 10^{-4} „molar" (25 °C) zeigten leichte Schädigungen und konnten durch die IES nicht beeinflußt werden. Bei 30 °C war das Bild etwas verschoben. Bei dieser Temperatur kam auch die IES-Wirkung stärker zur Geltung. Das Längenwachstum wurde bei 6,6 · 10^{-7} „molar" Diazinon auch mit IES nicht beeinflußt, dagegen trat bei 6,6 · 10^{-6} „molar" eine signifikante Förderung und bei 6,6 · 10^{-5} „molar" wiederum eine Enthemmung auf (Abb. 14).

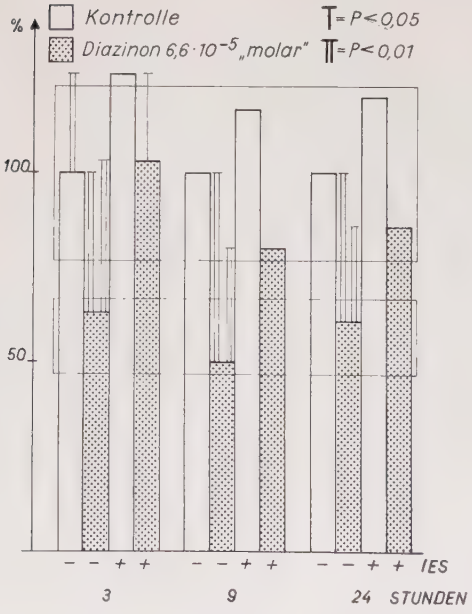


Abb. 15

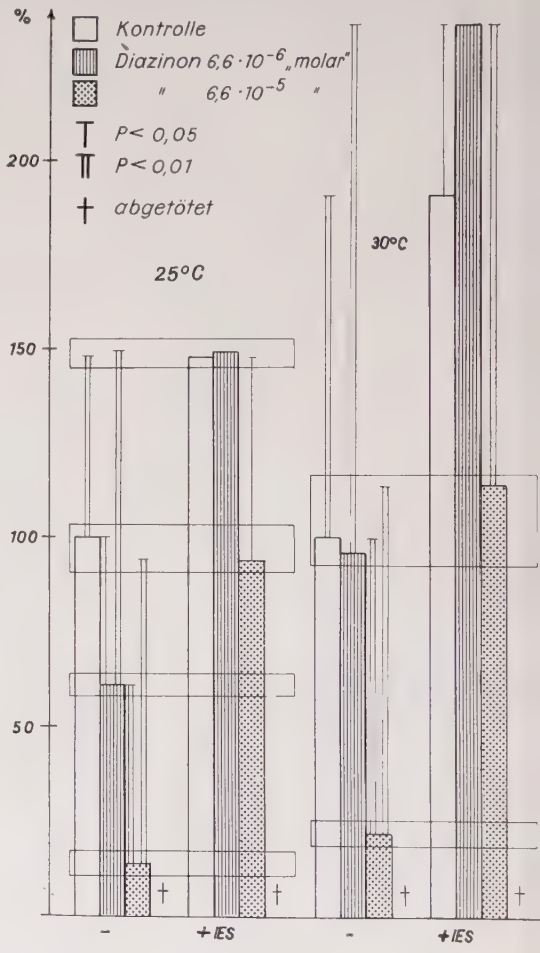


Abb. 16. Diazinon

Abb. 15. *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken durch Diazinon 6,6 · 10^{-5} „molar" und Zusammenwirken mit IES 5,7 · 10^{-7} molar in Abhängigkeit von der Zeit. Temperatur: 25 °C. Werte in Prozent der Kontrollen. Aufzucht im Dunkeln

Abb. 16. *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken durch Diazinon. Zusammenwirken mit IES 5,7 · 10^{-7} molar. Werte in Prozent der Kontrolle. Aufzucht bei 12 Stunden je Tag Licht

Abbildung 15 zeigt, daß die oben beschriebenen Effekte sich innerhalb von 24 Stunden nicht verändern. Es wurde nach 3, 9 und 24 Stunden abgelesen und die Werte je auf die gleichzeitig gemessene Kontrolle bezogen. Die „Diazinonkonzentration" betrug $6{,}6 \cdot 10^{-5}$ „molar". Einzig die Wuchsstoffwirkung ohne Insektizid kam nach drei Stunden Einwirkung stärker zur Geltung, so daß eine signifikante Förderung auftrat, die nach 24 Stunden nicht mehr vorhanden war. Die Hemmung durch das Insektizid und die Enthemmung mit IES erfuhren aber über den ganzen Zeitabschnitt keine Veränderung.

Wurden die Keimlinge vor dem Versuch im Licht, 12 Stunden je Tag, aufgezogen, machte sich die Wuchsstoffwirkung stärker bemerkbar, d. h. die Kontrollen mit IES und ohne Insektizid zeigten eine starke Förderung (Abb. 16). Diese wirkte sich auch bei den durch Diazinon gehemmten Hypokotylstücken in vermehrtem Maße aus. Die Empfindlichkeit der Organismen war unter diesen Bedingungen gegenüber dem Diazinon erhöht, indem die Hemmwirkung schon bei $6{,}6 \cdot 10^{-6}$ „molar" auftrat und die Hypokotyle bei $6{,}6 \cdot 10^{-4}$ „molar" auch bei 25 °C abgetötet wurden.

Bei 25 °C ließ sich die „konzentrationsabhängige" Hemmung mit IES aufheben, bei $6{,}6 \cdot 10^{-6}$ „molar" sogar soweit, daß der Wert der IES-Kontrolle erreicht wurde, während bei $6{,}6 \cdot 10^{-5}$ „molar" nur der Kontrollwert ohne IES erreicht werden konnte.

Bei 30 °C war die Hemmung etwas abgeschwächt. Es trat nur eine solche bei $6{,}6 \cdot 10^{-5}$ „molar" auf, die mit IES aufgehoben werden konnte. Der IES-Zusatz bei $6{,}6 \cdot 10^{-6}$ „molar" bewirkte eine starke Förderung, sogar gegenüber der Kontrolle mit IES allein.

Die enthemmende Wirkung der IES ist also auch unter diesen Bedingungen vorhanden.

Thiometon zeigte ein ähnliches Verhalten wie Diazinon. Der Intervall zwischen keiner Wirkung und letalem Ausgang war aber noch kleiner. Bei $4{,}1 \cdot 10^{-5}$ „molar" wurde noch kein Einfluß beobachtet, während bei $4{,}1 \cdot 10^{-4}$ „molar" und 25 °C bereits eine starke Hemmung auftrat, die bei 30 °C zur Abtötung der Organismen führte.

Das Zusammenwirken mit IES war in dem Sinne vorhanden, daß bei 25 °C die Hemmung durch IES signifikant abgeschwächt werden konnte (Abbildung 17). Dagegen trat bei den schwächeren „Konzentrationen" auch bei 30 °C keine Förderung gegenüber der Kontrolle auf.

Die Wirkung von Methylgusathion (Abb. 18) wurde bei 25 °C geprüft. Es zeigte sich bei der „Konzentration" von $3{,}2 \cdot 10^{-4}$ „molar" eine Hemmung, die mit IES abgeschwächt werden konnte. Bei $3{,}2 \cdot 10^{-5}$ „molar" waren die Verhältnisse weniger klar: gegenüber der Kontrolle trat nur eine schwach signifikante Hemmung auf, die mit IES aber nicht signifikant aufgehoben werden konnte, da zu große Streuungen auftraten. Es zeigte sich also auch bei dieser Substanz ein relativ kleiner wirksamer „Konzentrationsbereich".

Für Sulfotepp wurden bei 25 °C die „Konzentrationen": $3{,}5 \cdot 10^{-6}$, $3{,}5 \cdot 10^{-5}$ und $3{,}5 \cdot 10^{-4}$ „molar" getestet. In diesem Bereich zeigten sich keine Einflüsse. Die Kombination mit IES ergab auch keine Förderung.

Phosphamidon zeigte in diesem Test ebenfalls keine Wirkung. Es wurden bei 25 °C folgende Konzentrationen (Phosphamidon ist vollständig wasserlöslich): $2{,}5 \cdot 10^{-6}$, $2{,}5 \cdot 10^{-5}$ und $2{,}5 \cdot 10^{-4}$ molar. Auch bei dieser Substanz gab die Kombination mit IES keine Förderung.

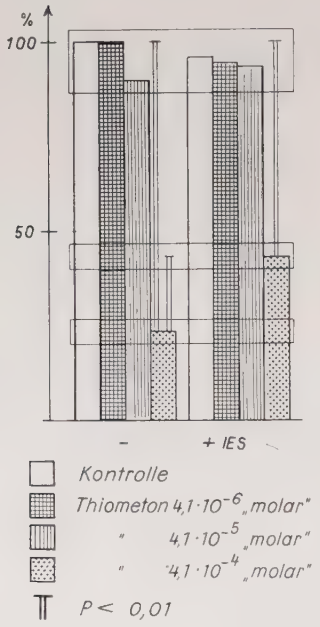


Abb. 17

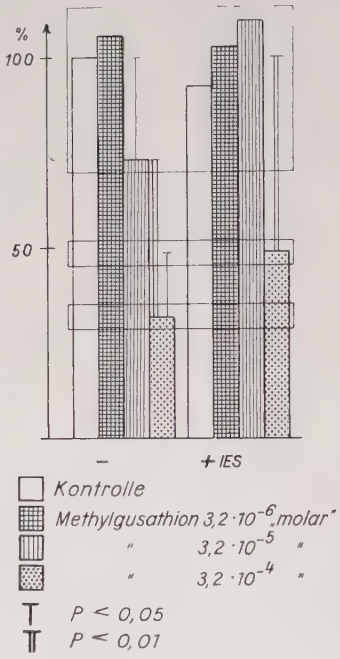


Abb. 18

Abb. 17. *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken durch Thiometon. Zusammenwirken mit IES $5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar. Temperatur: 25 °C. Werte in Prozent der Kontrolle. Aufzucht im Dunkeln

Abb. 18. *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken durch Methylgusathion. Zusammenwirken mit IES $5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar. Temperatur: 25 °C. Werte in Prozent der Kontrolle. Aufzucht im Dunkeln

2. *Zusammenwirken mit PAM*

Obwohl die Versuche mit *Saccharomyces* und *Pisum* keine Anhaltspunkte dafür gegeben hatten, daß PAM als Antigift bei phytotoxischen Effekten in Frage kommt, wurde trotzdem bei dieser Versuchsanordnung PAM an Diazinon und Thiometon getestet.

Es wurden die Hypokotylstücke von Keimlingen, deren Nährlösung PAM (10^{-4} molar) zugesetzt worden war, mit solchen, die unter den gewohnten Bedingungen aufgezogen worden waren, unter dem Einfluß von Diazinon verglichen. Die „Insektizidkonzentrationen" betrugen $6{,}6 \cdot 10^{-6}$ und $6{,}6 \cdot 10^{-5}$ „molar" und wurden bei 25 °C einwirken gelassen. Die Hypokotylstücke der Keimlinge, die PAM aufgenommen hatten, zeigten ohne Diazinonzusatz eine signifikante Förderung gegenüber der Kontrolle ohne PAM. Bei den beiden

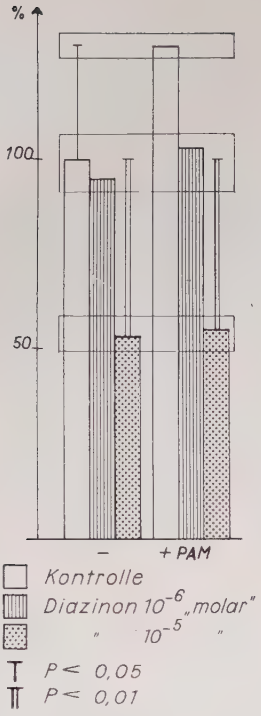


Abb. 19

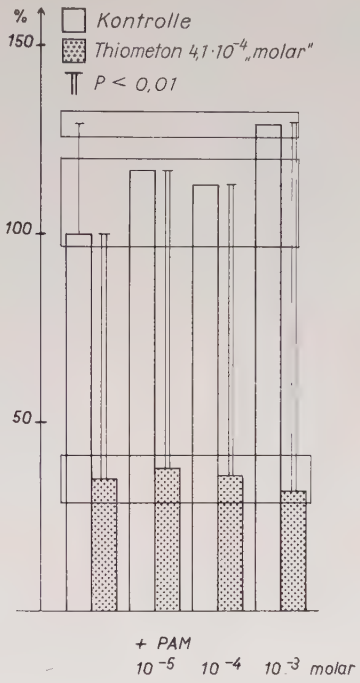


Abb. 20

Abb. 19. *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken durch Diazinon. Zusammenwirken mit PAM 10^{-4} molar. Temperatur: 25 °C. Werte in Prozent der Kontrolle. Aufzucht im Dunkeln

Abb. 20. *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken durch Thiometon $4{,}1 \cdot 10^{-4}$ „molar". Zusammenwirken mit PAM verschiedener Konzentration. Temperatur: 25 °C. Werte in Prozent der Kontrolle. Aufzucht im Dunkeln

Diazinondosen zeigte sich jedoch kein Unterschied mehr zwischen den Hypokotylen der mit und ohne PAM aufgezogenen Pflanzen (Abb. 19).

Beim Test mit Thiometon wurden die Keimlinge unter den normalen Bedingungen aufgezogen. Die Hypokotylstücke wurden während einer Stunde in PAM-Lösungen (10^{-5}, 10^{-4} und 10^{-3} molar) gelegt, kurz mit Wasser gespült und erst dann für 24 Stunden in die Thiometonemulsion gelegt. Die Kontrollen wurden genau gleich behandelt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 20 dargestellt. Eine Enthemmung konnte in keinem Fall erzielt werden, obwohl die höchste angewendete PAM-Konzentration allein eine schwache Förderung bewirkte.

Es handelt sich in beiden Fällen um Insektizid-„Konzentrationen", die die Hypokotylstücke nicht irreversibel geschädigt hatten, was aus den IES-Versuchen hervorgeht. Auch aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß PAM bei Vergiftungserscheinungen an Pflanzen als Antidot offenbar nicht in Frage kommt.

B. Carbaminsäureester, Zusammenwirken mit IES

Aus dieser Gruppe von Verbindungen wurden die beiden Vertreter Isolan und Dimetan geprüft. Isolan ist mit Wasser in jedem Verhältnis mischbar, Dimetan zu 3 % löslich. Bei dem angewendeten Konzentrationsbereich von 10^{-6} bis 10^{-4} molar waren also beide löslich.

Die Wirkung der beiden Substanzen war wenig ausgeprägt. Bei 25 °C konnte nur bei Isolan und nur bei der stärksten Konzentration eine Hemmung beobachtet werden, während Dimetan keine Wirkung aufwies. Das Zusammenwirken mit IES ergab für Isolan die Aufhebung der Hemmwirkung. Eine Förderung durch den Zusatz von IES trat bei beiden Stoffen nicht auf (Abb. 21 und 22).

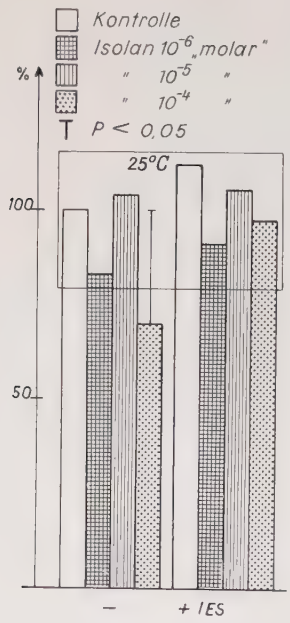


Abb. 21. *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstükken durch Isolan. Zusammenwirken mit IES $5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar. Werte in Prozent der Kontrolle. Aufzucht im Dunkeln

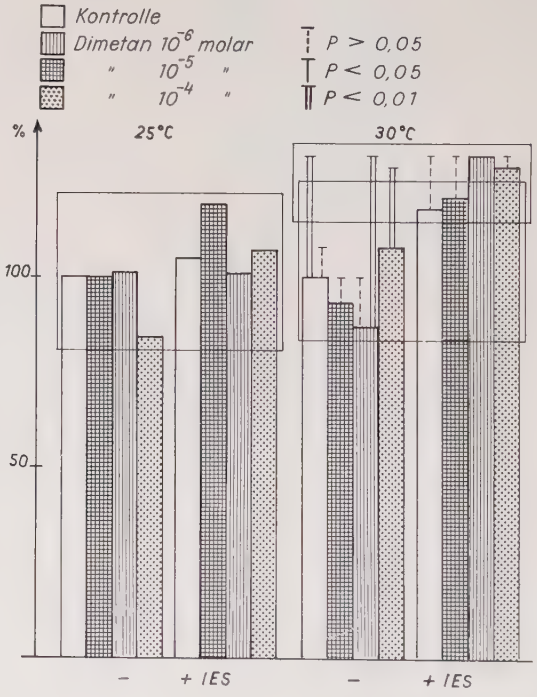


Abb. 22. *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken durch Dimetan. Zusammenwirken mit IES $5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar. Werte in Prozent der Kontrolle. Aufzucht im Dunkeln

Für Dimetan wurden die Verhältnisse noch bei 30 °C untersucht. Eine Hemmung trat auch hier nicht auf. Der Zusatz von IES bewirkte eine schwache Förderung, die bei 10^{-5} und 10^{-4} molar signifikant gegenüber der Kontrolle ohne Zusätze, aber nicht gegenüber jenen mit IES allein war. Somit ist das Zusammenwirken dieser beiden Substanzen mit IES nur sehr schwach.

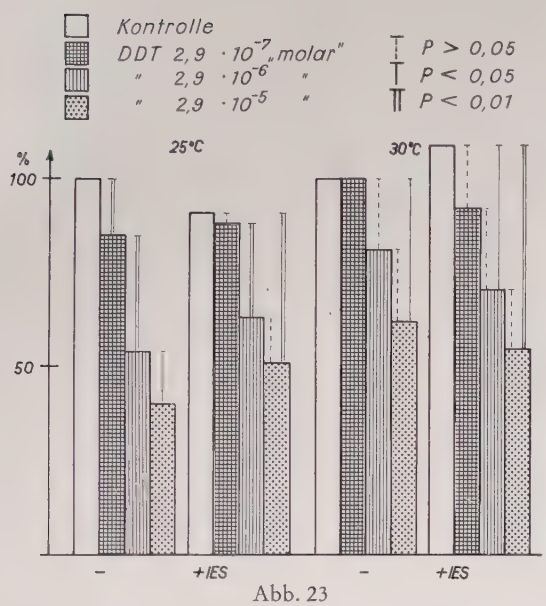


Abb. 23

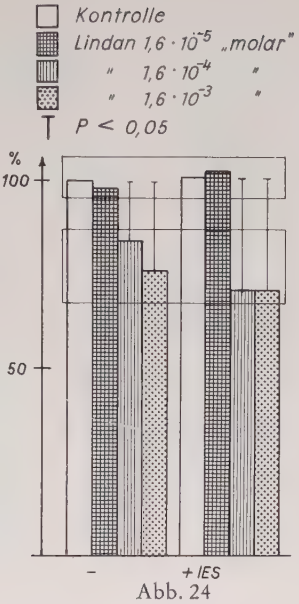


Abb. 24

Abb. 23 (links). *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken durch DDT. Zusammenwirken mit IES $5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar. Werte in Prozent der Kontrolle. Aufzucht im Dunkeln

Abb. 24 (rechts). *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken durch Lindan. Zusammenwirken mit IES $5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar. Temperatur: 30 °C. Werte in Prozent der Kontrolle. Aufzucht im Dunkeln

C. Chlorierte Kohlenwasserstoffe, Zusammenwirken mit IES

Als Vertreter der Gruppe der chlorierten Kohlenwasserstoffe wurden DDT, Lindan, Chlorpropylat und Chlorbenzilat gewählt.

DDT und Lindan zeigten in ihren Wirkungen eine gewisse Ähnlichkeit, wobei aber die wirksamen „Konzentrationen" unterschiedlich waren. Die Bereiche lauten für DDT: $3 \cdot 10^{-7}$ bis $3 \cdot 10^{-5}$ „molar" und für Lindan: $1{,}6 \cdot 10^{-5}$ bis $1{,}6 \cdot 10^{-3}$ „molar". In ihrem Verhalten im Test gleichen sie sich darin, daß beide eine Hemmung des Längenwachstums bewirken, die durch IES bei keiner „Konzentration" beeinflußt werden konnte.

Bei DDT war die Hemmung deutlich „konzentrationsabhängig", wobei aber die Erhöhung der Temperatur von 25 auf 30 °C den Effekt abschwächte. Der Zusatz von IES bewirkte in keinem Fall eine Enthemmung oder Förderung bei schwacher „Konzentration" (Abb. 23).

Bei Lindan war die Hemmwirkung weniger stark, trat erst bei viel höherer „Konzentration" als bei DDT auf und war nicht deutlich „konzentrationsabhängig". Zudem fällt auf, daß die Hemmwirkung erst bei 30 °C zur Geltung kam. Der Zusatz von IES bewirkte ebenfalls keine Enthemmung oder Förderung bei schwacher „Konzentration" (Abb. 24).

Die Wirkungsweise von Chlorpropylat und Chlorbenzilat, beides Derivate des DDT, glich im *Cucumis*-Test weitgehend jener der Phosphorsäureester. Beide

Substanzen wirkten „konzentrationsabhängig“ auf das Längenwachstum, und der IES-Zusatz beeinflußte diese Effekte. Beide Substanzen wirkten ungefähr im gleichen „Konzentrationsbereich“ von etwa $3 \cdot 10^{-6}$ bis $5 \cdot 10^{-4}$ „molar“.

Chlorpropylat wirkte bei 25 °C in den „Konzentrationen“ von $3{,}2 \cdot 10^{-5}$ und $3{,}2 \cdot 10^{-4}$ „molar“ hemmend, wobei die Unterschiede zur Kontrolle und untereinander signifikant waren. Der Zusatz von IES vermochte bei $3{,}2 \cdot 10^{-5}$ „molar“ die Hemmung aufzuheben, allerdings verblieb ein signifikanter Rückstand gegenüber der Kontrolle mit IES allein. Die stärkere „Konzentration“ blieb durch IES unbeeinflußt. Im Falle von 30 °C trat bei $3{,}2 \cdot 10^{-6}$ „molar“ eine starke Förderung auf, dafür bewirkte $3{,}2 \cdot 10^{-5}$ „molar“ nur eine schwache Hemmung. Die nächst stärkere „Konzentration“ verursachte das Absterben der Hypokotylstücke. Mit dem Zusatz von IES konnte die Hemmung bei $3{,}2 \cdot 10^{-5}$ „molar“ aufgehoben werden, während die Förderung bei $3{,}2 \cdot 10^{-6}$ „molar“ unbeeinflußt blieb (Abb. 25).

Bei 25 °C übte Chlorbenzilat ungefähr die gleiche Wirkung aus wie Chlorpropylat. Die „Konzentrationen“ $4{,}7 \cdot 10^{-5}$ und $4{,}7 \cdot 10^{-4}$ „molar“ bewirkten eine Hemmung, die nur bei $4{,}7 \cdot 10^{-5}$ „molar“ durch IES aufgehoben werden konnte. Bei der Erhöhung der Temperatur von 25 auf 30 °C ergab sich im Gegensatz zu Chlorpropylat keine Förderung bei schwacher „Konzentration“ sowohl ohne als auch mit dem IES-Zusatz. Bei $4{,}7 \cdot 10^{-4}$ „molar“ wurden die Hypokotylstücke abgetötet. Der IES-Zusatz bewirkte nur für die nicht signifikante Hemmung bei $4{,}7 \cdot 10^{-5}$ „molar“ eine signifikante Förderung (Abb. 26).

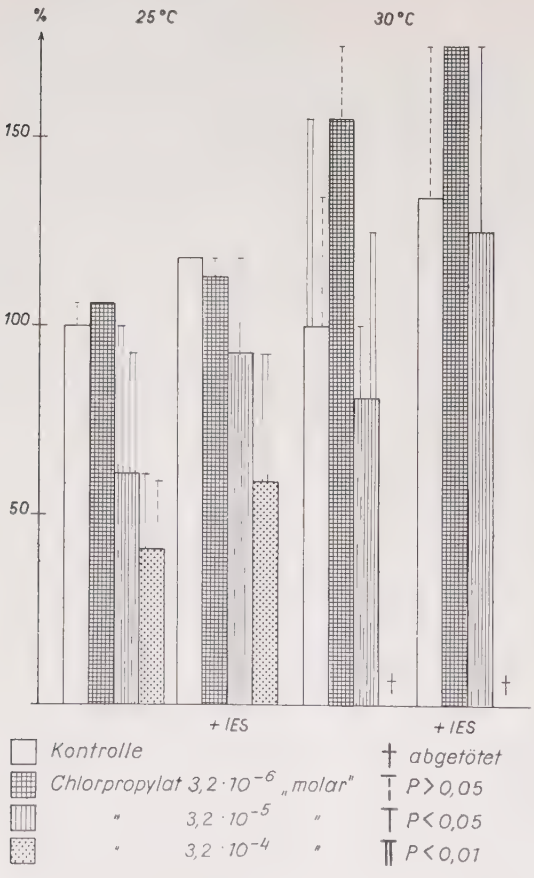
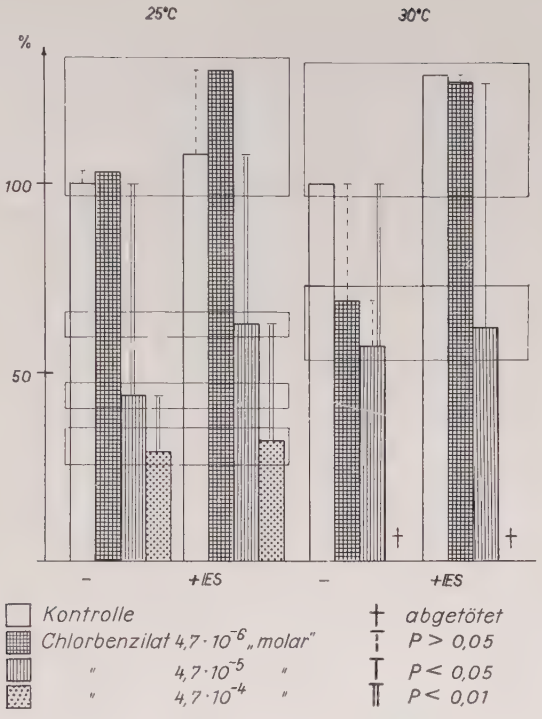


Abb. 25. Chlorpropylat

Abb. 25. *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken durch Chlorpropylat. Zusammenwirken mit IES $5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar. Werte in Prozent der Kontrolle. Aufzucht im Dunkeln

Abb. 26. Chlorbenzilat

Abb. 26. *Cucumis sativus*: Beeinflussung des Längenwachstums von Hypokotylstücken durch Chlorbenzilat. Zusammenwirken mit IES $5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar. Werte in Prozent der Kontrolle. Aufzucht im Dunkeln



DISKUSSION

Für die Beurteilung von Insektiziden sind abgesehen von der insektiziden Wirksamkeit die Cholinesterasehemmung, die Warmblütertoxizität, die Wasserlöslichkeit und das Verhalten auf der Pflanze (systemische Eigenschaften, Tiefenwirkung oder Verbleiben an der Oberfläche) wichtig.

Wie bereits darauf hingewiesen wurde, besteht die Toxizität der Phosphorsäureesterinsektizide, sowohl für Insekten als auch für Warmblüter, weitgehend darin, daß eine Blockierung der für die Reizleitung in den Nervenbahnen wichtigen Cholinesterase durch eine Phosphorylierung stattfindet. Dies kann allerdings nicht die ausschließliche Wirkung sein, denn es gibt Insektizide mit schwacher Warmblütertoxizität, die die Cholinesterase in hohem Maße hemmen, wie z. B. Diazinon (vgl. Gasser 1953).

Es wird vermutet, daß auch spezifische Fermenthemmungen für die Phytotoxizität verantwortlich seien; zeigen doch Aktivitätsmessungen, daß einzelne Enzyme gehemmt werden können (Waeckers 1954, Ziegler 1957, Bocharova 1958, Beye 1960c, Kiermeier et al. 1961).

Bei den Warmblütern besteht folgender Zusammenhang zwischen Konstitution der Verbindungen und der Toxizität: in einer homologen Reihe, z. B. bei Demeton und den davon abgeleiteten Verbindungen und Isomeren sind die Stoffe mit der P = O-Gruppierung toxischer als jene mit der P = S-Gruppie-

rung (vgl. JOHANSEN 1956). So ist z. B. Thiometon, das sich von Methyldemeton nur durch die PS-S-Gruppierung unterscheidet, gut insektizid wirksam aber weniger toxisch als Methyldemeton (KLOTZSCHE 1958).

Es stellt sich die Frage, ob sich aus den hier mitgeteilten Versuchsresultaten Schlüsse auf die Art oder den Angriffsort der Insektizide im physiologischen Geschehen der Pflanze ziehen lassen.

Zunächst ist festzustellen, daß sich keine Parallelen finden lassen zwischen Konstitution, Cholinesterasehemmung, Warmblütertoxizität, Verhalten auf der Pflanze und den gefundenen Effekten, was auch BEYE (1961 b) feststellt. So wiesen in den Gaswechselversuchen mit der Hefe die stark warmblütertoxischen Stoffe wie Methyldemeton, Phosphamidon und Phosdrin praktisch keine Effekte auf, während bei Parathion, das ebenfalls stark toxisch ist und den beiden weniger giftigen Substanzen Thiometon und Diazinon ähnliche und starke Wirkungen auftraten. Es fällt aber auf, daß dort, wo Effekte auftraten, sich alle in einem ähnlichen „Konzentrationsbereich" abspielten. Unter den wirksamen Substanzen und jenen ohne Einfluß finden sich sowohl solche mit systemischen Eigenschaften als auch solche mit Tiefenwirkung.

Daß bei solchen kurzfristigen Versuchen (Gesamtdauer nicht mehr als vier Stunden) die unterschiedliche Anfälligkeit gegen Hydrolyse eine Rolle spielen könnte, ist wenig wahrscheinlich, zeigen doch nach MÜHLMANN und SCHRADER (1957), GYSIN und MARGOT (1958) und ANLIKER et al. (1960) die Phosphorsäureester im pH-Bereich von 4 bis 5 eine relativ gute Beständigkeit. Die Halbwertzeit liegt nach diesen Autoren für die in Frage kommenden Substanzen bei 30 °C zwischen 10 bis 140 Tagen.

Die Tatsache, daß mit KCN keine Verstärkung der Phytotoxizität der Insektizide erzielt werden konnte, spricht mindestens dagegen, daß die Wirkung dieser Substanzen am gleichen Enzymsystem angreift, obwohl einige Phosphorsäureester formal den Pasteureffekt hervorriefen, was eine Hemmung der Atmungsfermente vermuten lassen könnte. Die ebenfalls starken Cholinesterase hemmenden Carbaminsäureester zeigten aber eine prinzipiell andere Wirkung auf den Gasaustausch der Hefe. Es scheint also, daß hier nicht von einer spezifischen Fermenthemmung gesprochen werden kann.

Die Versuche über die Lactoflavinbildung bei *Aspergillus*-Arten unter Diazinoneinfluß können in diesem Zusammenhang, trotz der scheinbar spezifischen Wirkung, wenig Aufschluß geben, da bei den langen Einwirkungszeiten von vier Wochen in wässeriger Emulsion bei pH 3 bis 4 für Diazinon mit einer weitgehenden Zersetzung gerechnet werden muß (GYSIN und MARGOT 1958).

Auch aus den Resultaten der Versuche über das Längenwachstum der *Cucumis*-Hypokotylstücke lassen sich keine Parallelen zu den übrigen biologischen Eigenschaften der Insektizide finden. Es zeigt sich auch keine Spezifität in der Wirkung der einzelnen chemischen Verbindungsklassen. Es ließ sich die Hemmung bei den Substanzen der Phosphorsäureester und der chlorierten Kohlenwasserstoffe zum Teil durch IES-Zusätze beeinflussen.

Das Ergebnis, daß PAM in keinem Versuch eine enthemmende Wirkung ausübte, spricht auch eher dafür, daß es sich nicht um einzelne Fermentblokkierungen handelt. Diese Schlußfolgerung ist allerdings kein zwingender Be-

weis, da auch nicht alle Cholinesterasehemmungen aufgehoben werden (vgl. Jaques et al. 1957 und 1960).

Es lassen sich also aus den beschriebenen Versuchen keine Hinweise auf einen bestimmten Angriffsort in der Pflanzenzelle aufzeigen.

Es scheint aber, daß neben anderen unbekannten Wirkungen die physikalischen Eigenschaften der Substanzen und die Bedingungen, unter denen sie appliziert werden, eine wichtige Rolle für die phytotoxischen Effekte spielen. Dies geht aus den Versuchen über das Myzelwachstum der *Aspergillus*-Arten und die Anwendung von Netzmitteln bei *Cucumis* und *Zea Mays* hervor.

Inwiefern eine wirkliche Wechselwirkung zwischen der IES und den Insektiziden stattfindet, läßt sich aus diesen Versuchen nicht beurteilen. Wie die Verwendung von Netzmitteln zeigt, scheinen auch Permeabilitätsfragen eine wichtige Rolle zu spielen. Es wurde schon mehrfach diskutiert, daß die IES die Permeabilitätseigenschaften der pflanzlichen Zelle verändern kann (Pohl 1961). Das wäre eine Erklärungsmöglichkeit für die enthemmende Wirkung der IES im *Cucumis*-Test.

Zusammenfassung

1. Es wird die Phytotoxizität von verschiedenen Insektiziden aus den Gruppen der Phosphorsäureester, Carbaminsäureester und chlorierten Kohlenwasserstoffe geprüft. Es werden untersucht: Der Gaswechsel von *Saccharomyces cerevisiae* mit der Warburgapparatur, das Wachstum und die Lactoflavinbildung von *Aspergillus*-Arten, die Keimung und das Wachstum höherer Pflanzen unter dem Einfluß von Insektiziden.

2. Durch das Zusammenwirken der Insektizide mit KCN, PAM und IES wird versucht, über die Wirkungsweise der Insektizide Aufschluß zu erhalten.

3. Die Phosphorsäureester Phosphamidon, Dipterex, Methylgusathion, Methyldemeton und Sulfotepp haben keinen Einfluß auf den Gaswechsel der Hefe („Konzentrationsbereich": $2 \cdot 10^{-5}$ bis $5 \cdot 10^{-3}$ „molar").

4. Die Phosphorsäureester Parathion, Methylparathion, Thiometon und Diazinon haben zum Teil formal die gleiche Wirkung wie KCN (Pasteureffekt) auf den Gaswechsel der Hefe („Konzentrationsbereich": $2 \cdot 10^{-5}$ bis $5 \cdot 10^{-3}$ „molar".

5. Durch Zusätze von KCN, PAM oder IES können die Effekte bei der Hefe nicht beeinflußt werden.

6. Die Carbaminsäureester Isolan und Dimetan beeinflussen nur die Gärung: Förderung in Form einer Optimumkurve (Konzentrationsbereich: $5 \cdot 10^{-5}$ bis $5 \cdot 10^{-2}$ molar).

7. Der Einfluß auf den Gaswechsel der Hefe der chlorierten Kohlenwasserstoffe DDT, Chlorpropylat und Chlorbenzilat zeigt unterschiedliche Wirkungen im „Konzentrationsbereich" von $2 \cdot 10^{-5}$ bis $2 \cdot 10^{-2}$ „molar".

8. Mit der Hängetropfenkultur und dem Oxfordtest kann bei *Aspergillus*-Arten mit Diazinon kein Einfluß auf das Myzelwachstum festgestellt werden ($3{,}3 \cdot 10^{-3}$ „molar").

9. Das Flächenwachstum von *Aspergillus*-Arten wird durch Diazinon gehemmt, wenn das Gift vor dem Plattengießen dem Agar zugegeben wird („Konzentrationsbereich": $4 \cdot 10^{-5}$ bis $4 \cdot 10^{-3}$ „molar" bezogen auf das Agarvolumen).

10. Diazinon hemmt bei *Aspergillus*-Arten in Flüssigkeitskulturen nur die Bildung des Lactoflavins bei einer „Konzentration" von 10^{-3} „molar". Isolan zeigt keine Wirkung.

11. Bei der Saatgutbehandlung während der Quellung wird das Sproßwachstum von etiolierten *Pisum*-Keimlingen durch Diazinon gehemmt („Konzentration" im Quellmedium: $6{,}6 \cdot 10^{-4}$ „molar"). Die Keimlinge von *Zea Mays* werden nicht beeinflußt ($6{,}6 \cdot 10^{-3}$ „molar").

12. PAM vermag die Hemmung des Sproßwachstums der *Pisum*-Keimlinge nicht zu beeinflussen.

13. Bei der Applikation von Diazinon auf die Wurzeln von *Zea Mays*-Keimlingen wird das Sproßwachstum empfindlicher gehemmt als das Wurzelwachstum („Konzentration": $1{,}3 \cdot 10^{-3}$ „molar"). Der Zusatz von Netzmitteln kann die phytotoxischen Effekte wesentlich verändern.

14. Das Längenwachstum von Hypokotylstücken von *Cucumis sativus* wird durch Phosphorsäureester und chlorierte Kohlenwasserstoffe gehemmt („Konzentrationsbereich": $7 \cdot 10^{-7}$ bis 10^{-3} „molar").

15. Die Hemmung kann, mit Ausnahme von der durch DDT und Lindan hervorgerufenen, durch IES ($5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar) teilweise oder ganz aufgehoben werden.

16. Die Wachstumshemmungen der Hypokotylstücke können durch PAM nicht beeinflußt werden.

17. Phosphamidon, Sulfotepp (Phosphorsäureester), Isolan und Dimetan (Carbaminsäureester) weisen keine oder nur geringe Wirkungen auf das Längenwachstum auf.

18. Es läßt sich keine spezifische Wirkung der Phosphorsäureester feststellen, die als Hemmung eines bestimmten Fermentes oder Fermentsystems angesehen werden könnte.

19. Die phytotoxischen Einwirkungen sind abhängig von der Art der Applikation der Insektizide; Netzmittelzusätze können die Effekte wesentlich verändern.

Summary

Studies on the phytotoxicity of some insecticides, such as organo-phosphorus compounds, chlorinated hydrocarbons, and carbamates are described.

The phytotoxicity of these compounds were investigated by using the following three groups of bio-assays:

a) Warburg-assays: Determination of the influence of the insecticides on the respiration and fermentation of bakers yeast, *Saccharomyces cerevisiae*;

b) Assays with *Aspergillus* ssp.: Determination of the effect of the insecticides on the growth of mycelium and the production of lactoflavin by some species of the genus *Aspergillus;*

c) Assays with higher plants: Determination of the influence of the insecticides on the germination and the growth of some higher plants, such as peas, *Pisum sativum*, corn, *Zea Mays,* and cucumber, *Cucumis sativus.*

The insecticides were applied as solutions the concentration of which ranged from $2 \cdot 10^{-5}$ to 10^{-3} molar.

An attempt was made to obtain some information on the mechanism of action of the insecticides by means of studying their interactions with potassium cyanide, KCN, pyridine-aldoxime-methiodide, PAM, and indole-acetic acid, IAA.

It was found that the gas metabolism of yeast was influenced by Parathion, Methylparathion, Thiometon, Diazinon, Phosdrin, Isolan, Dimetan, DDT, Chloropropylate, and Chlorobenzilate, but not by Phosphamidon, Dipterex, Methylgusathion, Methyldemeton, and Sulfotepp. Parathion, Methylparathion, Thiometon, and Diazinon produced the Pasteur-effect, i. e. essentially the same reaction as is observed with potassium cyanide. Combined and simultaneous application of KCN and an insecticide did not increase the effects produced by each chemical alone.

High concentrations of Diazinon decreased, under certain conditions, the growth of mycelium of different species of the genus Aspergillus. Isolan had no such effects.

High concentrations of Diazinon decreased the growth of shoots more than that of roots of higher plants. The addition of wetting agents modified these effects.

High concentrations of Diazinon, Thiometon, Methylgusathion, Isolan, Dimetan, DDT, Lindane, Chloropropylate, and Chlorobenzilate decreased the elongation of pieces of the hypocotyl of *Cucumis sativus.* Through simultaneous application of IAA — as $5{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar solution — to each of these insecticides, except in the case of DDT and Lindane, it was possible to neutralise or reverse the inhibitory effects.

Simultaneous application of PAM however did not counteract the effects of the insecticides.

Die vorliegende Arbeit wurde im Botanischen Institut der Universität Basel ausgeführt. Dem Vorsteher des Instituts, Herrn Prof. Dr. Max Geiger-Huber, möchte ich für sein Interesse an meiner Arbeit und dafür, daß er mir die Mittel des Instituts zur Verfügung gestellt hat, herzlich danken.

Weiterhin bin ich zu großem Dank verpflichtet Herrn PD Dr. M. Reiff für Anregungen und manche Hinweise auf Literatur.

Für die Überlassung der Insektizide DDT, Lindan, Chlorbenzilat, Chlorpropylat, Isolan und Dimetan möchte ich Herrn Dr. R. Gasser, J. R. Geigy AG, Basel, und für jene der übrigen dem Kantonschemiker Basel-Stadt, Herrn Dr. R. Müller, meinen herzlichen Dank aussprechen.

Für die Mithilfe bei den mikrobiologischen Versuchen danke ich den Laborantinnen Frau S. Bowald und Fräulein S. Labhard.

Literaturverzeichnis

Referierende Arbeiten

HOLZ, W., und B. LANGE, 1957: Fortschritte der chemischen Schädlingsbekämpfung. 4. Aufl. Oldenburg.
MÜLLER, P., unter Mitarbeit von M. SPINDLER, 1954: Die Chemie der Insektizide, ihre Entwicklung und ihr heutiger Stand. Experientia **10**, 91—131.
O'BRIEN, R., 1960: Toxic Phosphorus Esters. Acad. Press, New. York.
PERKOW, W., 1956: Die Insektizide. Hüthig, Heidelberg.
POHL, R., 1961: In: Handb. Pflanzenphysiol., Bd. **14**, 703 ff. Springer, Berlin.
SPINDLER, M., 1955: Innertherapeutische Insektizide (Eine Übersicht). Z. Pfl.krankh. **62**, 98—165.
Vitamin Assay, 1947: Interscience Publishers, New York.

Originalarbeiten

ANLIKER, R., E. BERIGER, M. GEIGER und K. SCHMID, 1961a: Über die Synthese von Phosphamidon und seinen Abbau in Pflanzen. Helv. chim. Acta **44**, 1622—1645.
— —, — — und K. SCHMID, 1961b: Die Synthese von ^{14}C-markiertem Phosphamidon, einem neuen systemischen Insektizid. Experientia **17**, 492—493.
AUGUSTINSSON, K.-B., and G. JONSSON, 1957: Biochemical Studies on the Degradation Products of Diazinon. Experientia **13**, 438—440.
BEYE, F., 1960a: Die Wirkungen von Insektiziden in unterschiedlicher Formulierung (Spritzpulver und Emulsion) auf das Wachstum der Kressewurzel. Naturwissenschaften **47**, 500—501.
— —, 1960b: Wirkungen von Insektizidemulsionen auf das Wachstum von Kressewurzeln (*Lepidium sativum* L.). Naturwissenschaften **47**, 501—502.
— —, 1960c: Wirkungen von Insektiziden auf die Katalaseaktivität von Kresse-Keimlingen. Z. Naturforschg. **15 b**, 470—472.
— —, 1960d: Ein Beitrag zur physiologischen Einwirkung von Carbamaten bei *Lepidium sativum* L. Flora **149**, 543—565.
— —, 1961a: Die Wirkungen von Insektiziden auf das Wachstum von Kressewurzeln. Z. Pfl.krankh. **68**, 6—17.
— —, 1961b: Vergleich der pflanzenphysiologischen Wirkungen von Insektizidpräparaten in Modellversuchen. Angew. Bot. **35**, 146—153.
— —, 1961c: Der Biotestnachweis von Insektiziden in *Coleus blumei* mit *Drosophila melanogaster* M. I. Untersuchung der Blätter, Stengel und Wurzeln von Hydroponikkulturen bei Applikation von Insektiziden über die Nährlösung. Anz. Schädlingskde. **34**, 33—39.
BOCHAROVA, L. P., and N. S. UKRAINETS, 1958: The Effect of Organophosphorus Insecticides on Ascorbinoxidase. Biokhimiia **23**, 364—365; Abstract in Biol. Abstr. **35**, 19516 (1960).
BOLLAG, J.-M., 1960: Beitrag zur Klärung der Wirkungsweise der Gibberellinsäure beim vegetativen Wachstum. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **70**, 5—45. Diss. Basel.
BOWMAN, J. S., 1957: Metabolism of Systemic Insecticide 0,0-Diethyl S-ethyl-thiomethyl Phosphorodithioate (Thimet) in Plants. J. agric., Food Chem. **5**, 192—197.
BRAVO, R., 1956: Effectividad del lindano como agente inductor del poliploidismo en centeno. Acta agron. Columbia **6**, 143—147.
CANNON, N., and G. C. DECKER, 1958: The Conversion of Heptachlor to its Epoxide on Plants. J. econ. Ent. **51**, 3—7.
CARPENTER, C. P., C. S. WEIL, P. E. PALM, M. W., WOODSIDE, J. H. NAIR III and H. F. SMYTH jr., 1961: Mammalian Toxicity of l-Naphthyl-N-methylcarbamate (Sevin Insecticide). J. agric., Food Chem. **9**, 30—39.

Casida, J. E., 1956: Metabolism of Organophosphorus Insecticides in Relation to their Anti-esterase-Activity, Stability, and Residual Properties. J. agric., Food Chem. **4**, 772 bis 785.

Chaboussou, F., J. Delmas et P. Dureau, 1961: Sur l'élevation des taux d'azote protéique et de potasse dans les tissus foliaires de la vigne à l'application de certains produits insecticides et notamment du dichlorodiphényl-trichloréthane ou DDT. Compt. rend. Acad. Sci. **252**, 2438—2440.

Emmenegger, T., 1954: Vergleichende Untersuchungen über das Bildungsvermögen verschiedener Arten von *Aspergillus* für Lactoflavin. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **64**, 453—494; Diss. Basel.

Erdmann, W. D., 1957: Spezifische Antidotbehandlung bei Vergiftungen mit cholinesterase-blockierenden Phosphorsäureestern. Klin. Wschr. **35**, 747—751.

Fisher, R. A., 1954: Statistical Methods for Research Workers. Oliver and Boyd, Edinburgh, ed. 12.

Fukuto, T. R., J. P. Wolf, R. L. Metcalf III. and R. B. March, 1957: Identification of the Sulfone Plant Metabolite of the Thiono Isomer of Systox. J. econ. Ent. **50**, 399—401.

Gasser, R., 1952a: Untersuchungen über Insektizide mit Tiefenwirkung. Trans. Ninth Intern. Congr. Ent. **1**, 1037—1041.

— —, 1952b: Über das Verhalten von selektiven Insektiziden mit Tiefenwirkung in der Pflanze. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **62**, 66—79.

— —, 1952c: Über zwei neue Akarizide aus der Gruppe der Di(p-chlorphenyl)-karbinole. Experientia **8**, 65—67.

— —, 1953: Über ein neues Insektizid mit breitem Wirkungsspektrum. Z. Naturforschg. **8 b**, 225—232.

Getzin, L. W., and R. K. Chapman, 1959: Effect of Soils on the Uptake of Systemic Insecticides by Plants. J. econ. Ent. **52**, 1160—1165.

Giang, P. A., and M. S. Schechter, 1958: Colorimetric Method for Estimation of Guthion Residues in Cottonseeds and Cottonseed Oil. J. agric., Food Chem. **6**, 845—848.

Gysin, H., 1954: Über einige neue Insektizide. Chimia **8**, 221—228.

— —, and A. Margot, 1958: Chemistry and Toxicological Properties of 0,0-Diethyl-0-(2-isopropyl-4-methyl-6-pyrimidinyl) Phosphorothioate (Diazinon). J. agric., Food Chem. **6**, 900—903.

Hacskaylo, J., 1957a: Growth and Fruiting Properties and Carbohydrate, Nitrogen and Phosphorus Levels of Cotton Plants as Influenced by Thimet. J. econ. Ent. **50**, 280 bis 284.

— —, 1957b: Thimet Uptake by Pima S-1 Cotton and its Effect on Seedling Emergence. J. econ. Ent. **50**, 501—502.

Hopkins, A. R., R. E. Fye and R. L. Walker, 1958: Field Tests with Bayer 19639 and Thimet for Cotton Insect Control. J. econ. Ent. **51**, 100—102.

Huber, H., 1951: Über den Einfluß der Belichtung auf die Wuchsstoffempfindlichkeit von *Cucumis sativus* L. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **61**, 499—538; Diss. Basel.

Jaques, R., H. J. Bein und R. Meier, 1957: Therapeutische Möglichkeiten bei Vergiftung durch phosphororganische Anti-Esterasen. Schweiz. Med. Wschr. **87**, 1096—1098.

— —, und — —, 1960: Toxikologie und Pharmakologie eines neuen systemisch wirksamen Insektizids der Phosphorsäureester-Reihe, Phosphamidon (2-Chlor-2-diäthylcarbamoyl-1-methylvinyl-dimethylphosphat). Arch. Toxicol. **18**, 316—330.

Johansen, C., 1956: Chemical Structure and Insecticidal Activity of a Number of Systemic Insecticides. J. econ. Ent. **49**, 645—652.

Jucker, O., 1958: Thiometon, Verhalten in der Pflanze, Bestimmung von Spritzrückständen. Mitt. Geb. Lebensmittelunters., Hygiene **49**, 299—322.

Kiermeier, F., R. Kern und G. Wildbrett, 1961: Über die Hemmung der Peroxydase durch E-605 und verwandte Verbindungen. Naturwissenschaften **48**, 99—100.

Klotzsche, Cl., 1958: Thiometon, ein neuer systemischer Phosphorsäureester. Mitt. Geb. Lebenmittelunters., Hygiene **49**, 72—77.

Lichtenstein, E. P., and K. Schulz, 1960: Translocation of Some Chlorinated Hydrocarbon Insecticides into the Aerial Parts of Pea Plants. J. agric., Food Chem. **8**, 452—456.

Margot, A., und H. Gysin, 1957: Diazinon, seine Zersetzungsprodukte und ihre Eigenschaften. Helv. chim. Acta **40**, 1562—1573.

Metcalf, R. L., T. R. Fukuto and R. B. March, 1957: Plant Metabolism of Dithio-Systox and Thimet. J. econ. Ent. **50**, 338—345.

— —, H. T. Reynolds, M. Winton and T. R. Fukuto, 1959: Effects of Temperature and Plant Species Upon the Rates of Metabolism of Systemically Applied Di-syston. J. econ. Ent. **52**, 435—439.

Mühlmann, R., und G. Schrader, 1957: Hydrolyse der insektiziden Phosphorsäureester. Z. Naturforschg. **12 b**, 196—208.

Müller, R., G. Ernst und H. Schoch, 1957: Der Nachweis von Insektizidrückständen auf Pflanzenmaterial (Gemüse und Früchte) und die Trennung einzelner Schädlingsbekämpfungsmittel mit Hilfe der Papierchromatographie. Mitt. Lebensmitteluners., Hygiene **48**, 152—197.

Musfeld, W., 1942: Versuche über die Aufnahme von Zucker durch die Hefezellen. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **52**, 583—620; Diss. Basel.

Patchet, G. G., and G. H. Batchelder, 1960: Determination of Trithion Crop Residues by Cholinesterase Inhibition Measurement. J. agric., Food Chem. **8**, 54—57.

Probst, A. H., and R. T. Everly, 1957: Effect of Soil Insecticides on Emergence, Growth, Yield and Chemical Composition of Soybeans. Agron. J. **49**, 385—387.

Rieder, H. P., 1951: Über die Zuckeraufnahme von Hefezellen. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **61**, 539—622; Diss. Basel.

San Antonio, J. P., 1959: Demonstration of Lindane and a Lindane Metabolite in Plants by Paper Chromatography. J. agric., Food Chem. **7**, 322—325.

Spencer, E. Y., and I. R. Robinson, 1960: Metabolism of the Systemic Insecticide 0,0-Dimethyl 1-Carbomethoxy-1-propen-2-yl Phosphate (Phosdrin) in the Pea Plant. J. agric., Food Chem. **8**, 293—295.

Swart-Füchtbauer, H., 1955: Über den Einfluß von „Systox" auf Mikroorganismen. Höfchen-Briefe **8**, 28—34.

Waeckers, R. W., 1954: Untersuchungen über die pflanzenphysiologische Wirksamkeit des systemischen Insektizids „Systox". Höfchen-Briefe **7**, 101—105.

Walker, P. T., 1960: Insecticide Studies on East African Agricultural Pests. III. Seed Dressings for the Control of the Bean Fly *Melanogromyza Phaseoli* (Coq.), in Tanganyika. Bull. entomol. Res. **50**, 781—793.

Wallace, M. M. H., 1961: Enhanced Plant Growth with Two Systemic Insecticides. Nature **191**, 513—514.

Warburg, O., 1926: Über den Stoffwechsel von Tumoren. Berlin.

Waser, P. G., 1957: Über die Wirkungsweise von cholinergischen und anticholinergischen Stoffen. Schweiz. Med. Wschr. **87**, 577—585.

Wiesmann, R., R. Gasser und H. Grob, 1951: Über ein neuartiges, selektives Aphizid mit Tiefenwirkung. Experientia **7**, 117—120.

Wilson, I. B., and S. Ginsburg, 1955: A powerful reactivator of alkylphosphate-inhibited acetylcholinesterase. Biochim., biophys. Acta **18**, 168—170.

Winfield, J. B., 1960: A Consumer Safe Insecticide. World Crops **12**, 335—338.

Ziegler, H., 1957: Über die physiologischen Grundlagen der Wirkung des Insektizids E-605 auf den pflanzlichen Organismus. Biol. Zbl. **76**, 43—69.

Zürcher, H. E., 1954: Über die Eignung der Zucker als Substrat der energieliefernden Vorgänge in der Hefezelle. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **64**, 142—178; Diss. Basel.

Curriculum vitae

Am 28. Januar 1931 wurde ich, Fritz Eder, als Sohn des Willi Eder, Beamter, von Riehen, und seiner Ehefrau Johanna, geb. Binz, in Basel geboren.

Die Schulen besuchte ich in Basel, wo ich 1951 die Maturitätsprüfung am Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Gymnasium bestand.

Anschließend immatrikulierte ich mich an der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel, mit dem Ziel, Biologie zu studieren. Im zweiten Semester wählte ich endgültig Botanik als Hauptfach. Zur teilweisen Selbstbestreitung meines Studiums übernahm ich im Herbst 1953 die Stelle des Vorlesungsassistenten am Botanischen Institut. In der Folge bestand ich 1954 die Nebenfachexamina in Chemie und Zoologie und 1955 dasjenige in Bakteriologie-Hygiene.

Im Herbst 1957 wurde meine Arbeit wegen Erkrankung für mehr als ein Jahr unterbrochen.

Im Januar 1959 begann ich mit der vorliegenden Dissertation am Botanischen Institut der Universität Basel. Gleichzeitig nahm ich eine Halbtagsstelle im Laboratorium des Kantonschemikers Basel-Stadt an, wo ich mich mit Rückstandsanalysen von Insektiziden befasse.

Während meiner Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen und Kurse der Dozenten: E. Batschelet, M. Brenner, P. Buchner, H. Dahn, H. Erlenmeyer, A. Gasser, M. Geiger-Huber, R. Geigy, E. Handschin †, P. Huber, W. Kuhn, R. Müller, H. Nüesch, A. Ostrowski, H. van Oyen, A. Portmann, T. Reichstein, M. Reiff, H. Reinhardt, E. Salin, O. Schüepp, A. Speiser, J. Tomcsik, W. Vischer †.